

11262



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL**

**Comportamiento de las citocinas IL-4, IL-10, IL-12p70, Factor de
necrosis tumoral e interferón gamma en niños que desarrollan el
Síndrome de Insuficiencia Respiratoria Aguda una vez que se
instala la Lesión Pulmonar Aguda.**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS MÉDICAS
P R E S E N T A :
HUMBERTO DOMÍNGUEZ ARENAS

TUTORES:

M. en C. MIGUEL ANGEL VILLASÍS KEEVER
D. en C. ARMANDO ISIBASI ARAUJO



MÉXICO, D.F.

OCTUBRE DE 2004



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.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

DEDICATORIAS

A mi madre, hermanos y familia:

Por motivarme a alcanzar la meta en mis estudios de postgrado que un día decidí iniciar, a los que también estoy muy agradecido.

A mis compañeros Médicos Especialistas y Maestros en Ciencias:

Por su apoyo incansable en los momentos que compartimos durante nuestros cursos, ya que juntos supimos en todo momento que tal esfuerzo sería compensado en un futuro.

A mis Tutores: Dr. Miguel Angel Villasís Keever y Dr. Armando Isibasi Araujo
Por su apoyo incondicional, su confianza en mí, y su enseñanza que para mí es muy valiosa.

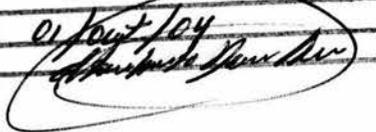
A DIOS:

Por hacerme ver cada día que vivo, la fragilidad de la vida, pero lo valiosa que es para entregarse a la ayuda del prójimo; así como por darme fuerza para continuar mis anhelos.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Humberto Domínguez Arenas.

FECHA: 01/09/14

FIRMA: 

ÍNDICE

PÁGINAS

RESUMEN	4
ABSTRACT	5
ANTECEDENTES	6
JUSTIFICACIÓN	16
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	17
OBJETIVOS	18
HIPÓTESIS	19
PACIENTES Y MÉTODOS	20
RESULTADOS	26
DISCUSIÓN	35
CONCLUSIONES	42
BIBLIOGRAFÍA	43
CUADROS	48
FIGURAS	51

RESUMEN

Objetivos. Comparar las concentraciones séricas y en lavado broncoalveolar (LBA) de las citocinas IL-4, IL-10, IL-12p70, TNF- α , e IFN- γ , en niños con LPA y SIRA.

Pacientes y métodos. Cohorte prospectiva de niños con LPA, integrada entre julio 1999 y junio 2001 en el Hospital de Pediatría del CMN Siglo XXI. Se midieron citocinas mediante ELISA, diariamente desde el diagnóstico y hasta el momento de la extubación, por mejoría o fallecimiento. *Análisis:* descriptivo con mediana y límites intercuartílicos (LIQ); para comparación entre grupos, U de Mann Whitney. Un valor $p < 0.05$ se consideró significativo.

Resultados. 38 pacientes. Doce desarrollaron SIRA; seis fallecieron. En IL-4, hubo diferencia ($p = 0.02$) entre concentraciones en LBA del grupo SIRA vs. grupo LPA al segundo día. IL-10 en LBA, en el grupo SIRA al inicio fue mayor ($p = 0.04$) que el grupo LPA. Para TNF- α en LBA, el grupo SIRA tuvo concentraciones mayores (1825.5 vs. 950.2 pg/mL; $p = 0.03$). IFN- γ sérico fue mayor en el grupo SIRA que el grupo LPA, con diferencia al iniciar el SIRA 69.8 vs. 24.5 pg/mL ($p < 0.05$). IL-12 sérica en el grupo SIRA fue mayor que el grupo LPA, pero sólo al inicio (180.9 vs. 98.7 pg/mL; $p = 0.03$).

En los pacientes con SIRA que se recuperaron vs. quienes fallecieron IFN- γ e IL-12 séricas, así como IL-4, IL-10 e IL-12 en LBA fueron mayores pero no hubo significancia estadística.

Conclusiones. En niños, la concentración en el LBA de citocinas pro y anti-inflamatorias, en general, es mayor entre los pacientes con SIRA que con LPA. Entre quienes desarrollan SIRA y fallecen, la concentración de citocinas pro-inflamatorias a nivel sérico es mayor que quienes sobreviven; lo opuesto se observa con las anti-inflamatorias.

ABSTRACT

Changes of IL-4, IL-10, IL-12p70, Tumor Necrosis Factor (TNF- α) and gamma-interferon (IFN- γ), among children with Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS) after the installation of the Acute Lung Injury (ALI).

Objective. To compare the IL-4, IL-10, IL-12p70, TNF- α , and IFN- γ serum and bronchoalveolar lavage levels (BAL) of children with ALI or ARDS.

Patients y methods. Prospective cohort study of children with ALI; the study was conducted between July 1999 and June of 2001 at the Hospital de Pediatría from the Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS. On daily basis, the cytokines were measured by ELISA, from diagnosis to the time of intubation withdrawal (improvement or dead). *Analyses:* descriptive analysis was carried out with median and inter-quartile limits (IqL); the comparison among groups was performed with Mann-Whitney U test. A p value < 0.05 was considered statistically significant.

Results. 38 patients; 12 developed ARDS and six died. *IL-4:* at second day of follow-up the BAL levels were different between ARDS group and ALI group (p = 0.02). *IL-10:* BAL levels of the ARDS group, at diagnosis, were higher (p = 0.04) than levels of ALI group. *TNF- α :* BAL levels of ARDS group were also significantly higher than those from ALI group (1825.5 vs. 950.2 pg/mL; p = 0.03). *IFN- γ :* ARDS group serum levels were higher than those from ALI group at the beginning of ARDS, 69.8 vs. 24.5 pg/mL (p < 0.05). *IL-12:* serum levels among ARDS group were higher than the levels of ALI group, but only at the beginning (180.9 vs. 98.7 pg/mL; p = 0.03), as well.

Among ARDS patients, those who recovered had higher levels than those who died of serum IFN- γ and IL-12, and of IL-4, IL-10 e IL-12 BAL levels; these results were not statistically significant.

Conclusions. Overall, in children, the BAL levels of pro and anti-inflammatory cytokines are higher in ARDS patients than those from ALI patients. Among those who develop ARDS, those who die have higher pro-inflammatory cytokines serum levels than those who survive; this observation is contrary to the anti-inflammatory cytokines behavior.

ANTECEDENTES

Lesión pulmonar aguda (LPA) y Síndrome de Insuficiencia Respiratoria Aguda (SIRA)

El síndrome de insuficiencia respiratoria aguda (SIRA) es una entidad clínica caracterizada por signos físicos de insuficiencia respiratoria, afección al intercambio gaseoso pulmonar, disminución en la distensión pulmonar y hallazgos radiográficos de infiltrado pulmonar difuso ¹⁻¹⁰. Esta falla respiratoria aguda tiene una etiología diversa y alta mortalidad; se asocia comúnmente con sepsis y falla orgánica múltiple. El SIRA no es una enfermedad simple, sino todo un complejo que se desarrolla a partir de una respuesta inflamatoria ²⁻⁴.

En general, se desconoce la frecuencia del SIRA; se ha considerado que esto puede ser debido a que no se sospecha la enfermedad, a su múltiple etiología y a la heterogeneidad de su presentación ⁶. La incidencia de SIRA en algunos hospitales pediátricos en los Estados Unidos de Norteamérica se ha reportado de 2.8 casos por cada 1000 admisiones hospitalarias y, del 4.2% de todos los casos admitidos en unidades de terapia intensiva ¹¹⁻¹³. Su mortalidad puede ser hasta del 50% ¹⁴⁻¹⁷. La incidencia reportada entre los años 1999 al 2001 en el Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI, del total de egresos de la UTIP fue de 3.8% para la LPA, y de 1.1% para SIRA.

Para dar claridad y uniformidad a la definición de la LPA y SIRA, en 1994 se formó el Comité del Consenso Americano-Europeo ⁶. En su última reunión, en el año de 1998, este comité recomendó que LPA y SIRA se definieran como síndromes de inflamación pulmonar e incremento de la permeabilidad alvéolo-capilar asociados

con diversas anormalidades clínicas, radiológicas y fisiológicas, que no pueden explicarse por la hipertensión atrial izquierda o hipertensión arterial pulmonar ¹⁸.

El espectro de la inflamación pulmonar comprende desde la afección mínima que corresponde a la LPA, hasta la grave que es el SIRA; en donde existe una gran incapacidad de la función ventilación-perfusión a nivel alveolar ^{6,18}.

La etiología del SIRA y, por consecuencia de la LPA, es diversa; se asocia con frecuencia con sepsis, aspiración del contenido gástrico, neumonía primaria y trauma múltiple. Existen asociaciones menos comunes que incluyen derivación cardiopulmonar, transfusiones múltiples, embolia grasa y pancreatitis ^{3,4,6-8}. Estas mismas entidades se han observado en pacientes pediátricos, en quienes además se ha relacionado con quemaduras, fracturas y coagulación intravascular diseminada ^{1,11,12}.

El diagnóstico para LPA y SIRA incluye: 1) presentación aguda del síndrome respiratorio; 2) por gasometría, alteración de la relación PaO₂/FiO₂. Cuando existe LPA, la relación es menor de 300 mmHg y para SIRA, menor a 200. 3) En ambas entidades, en la radiografía de tórax existe afección difusa del parénquima pulmonar y; 4) la presión pulmonar en cuña es menor de 18 mmHg o ausencia de hipertensión atrial izquierda. Tanto la fibrosis intersticial pulmonar como la sarcoidosis, cumplen los criterios de SIRA; sin embargo, por su cronicidad no se consideran LPA o SIRA ^{6,18}.

Fisiopatología del SIRA

El SIRA representa una respuesta inflamatoria intensa del pulmón a procesos pulmonares infecciosos, no infecciosos o lesiones extrapulmonares ^{4-7,19}. Se

desarrolla como resultado de una lesión endotelial mediada por células inflamatorias, con el consecuente daño de la integridad alveolar o capilar, resultando en la salida de un líquido rico en proteínas hacia el alveolo. Este líquido debe atravesar el endotelio capilar, la membrana basal del endotelio, el espacio intersticial, la membrana basal de las células epiteliales y, finalmente, la capa de células epiteliales^{5,7,20}.

Las consecuencias de una lesión alveolar en los casos típicos de SIRA, pueden observarse fácilmente por microscopía. Existen membranas hialinas que revisten el alveolo dañado que están compuestas de fibrina, proteínas del plasma y debris celular²⁰⁻²¹. Los eventos de la respuesta inflamatoria incluyen alteraciones en el plasma, algunos no mediados por células, como el sistema del complemento, coagulación/fibrinolisis y el sistema de cininas. También se observan otras alteraciones secundarias a la respuesta inflamatoria con mediadores generados por células (citocinas, mediadores lipídicos, oxidantes, proteasas, óxido nítrico, factores de crecimiento y neuropéptidos)^{5-7,19-22}. Generalmente, estos factores se consideran responsables de la lesión celular y de defectos en la producción del factor surfactante, alterando el equilibrio ventilación-perfusión y la distensión alveolar, entre otros⁶⁻¹⁸.

En 1997, Bone²³⁻²⁵ describió una hipótesis para la patogenia del Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SRIS), la cual está compuesta por cinco estadios; esta fisiopatogenia se considera similar para SIRA:

Estadio 1. Ante una lesión primaria o secundaria, el pulmón presenta una respuesta local pro y anti-inflamatoria fisiológica, con el fin de limitar la lesión.

Estadio 2. Si la lesión original es severa, aparece una reacción pro-inflamatoria sistémica. Los mediadores pro-inflamatorios inducen la expresión de moléculas de adhesión que reclutan neutrófilos, linfocitos T, linfocitos B y macrófagos en el sitio de la lesión; esta cascada estimula el inicio de una respuesta anti-inflamatoria sistémica, la cual rápidamente regula la respuesta pro-inflamatoria, con ninguno o con pocos signos y síntomas.

Estadio 3. Hay pérdida de la regulación de la respuesta pro-inflamatoria sistémica, estableciéndose el SRIS, el cual está constituido por una disfunción progresiva del endotelio, generando un aumento de la permeabilidad microvascular con agregación de plaquetas que bloquean la microcirculación. Esto, a su vez, produce mala distribución del flujo sanguíneo, con posible isquemia, que puede llevar a lesión por reperfusión. Como consecuencia, hay inducción de proteínas de choque térmico, activación del sistema de coagulación e inhibición de los mecanismos fisiológicos de la anticoagulación; también existe una profunda vasodilatación, trasudación y mala distribución del flujo sanguíneo, que pueden conducir al estado de choque. Finalmente, si la homeostasis no se restablece puede haber disfunción orgánica múltiple, con coagulación vascular generalizada y llegar a la muerte.

Estadio 4. Los pacientes con respuesta pro-inflamatoria sistémica masiva que no mueren en el estadio previo, pueden ser capaces de controlar esta fase con una respuesta anti-inflamatoria; sin embargo, esta respuesta puede ser tan excesiva que resulta en inmunosupresión. Los pacientes que nunca han tenido una respuesta inflamatoria masiva, también pueden presentar una respuesta anti-

inflamatoria excesiva, desarrollando un estado de inmunosupresión; que algunos autores han denominado “parálisis inmune” o “ventana de inmunodeficiencia”²³.

A esta fase, Bone la denominó como Síndrome de Respuesta Anti-inflamatoria Compensatoria (SRAC). En presencia de este síndrome, existe mayor susceptibilidad a las infecciones y anergia. Existe incremento en el número de monocitos, con una reducción persistente en los antígenos de histocompatibilidad clase II tipo HLA-DR y HLA-DQ, con disminución en la capacidad de formación de especies reactivas del oxígeno y citocinas pro-inflamatorias, expresión y síntesis de citocinas anti-inflamatorias como IL-10 y el factor de crecimiento transformante -b (TGF-b), cuya acción inhibe la proliferación de linfocitos T-antígeno-específicos.

Estadio 5. El estadio final llamado por algunos autores como “disonancia inmunológica”, Bone lo denominó Síndrome de Respuesta Antagonista Mixta (SRAM) y puede tomar varias formas. Una de ellas puede oscilar entre períodos de severa inflamación y severa inmunosupresión; durante esta etapa se incrementa la susceptibilidad a infecciones secundarias principalmente por bacterias Gram-positivas. Así mismo puede haber citocinas pro y anti-inflamatorias; lo cual genera una nueva respuesta pro-inflamatoria, seguida por otra anti-inflamatoria y, así, oscilar hasta la recuperación o la muerte. El balance entre mediadores pro y anti-inflamatorios es crucial para regular y limitar el alcance del SRIS y el SRAC para consolidar la homeostasis²³⁻²⁵.

Factores implicados en el SIRA

Moléculas pro-inflamatorias

Factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, IL-15, elastasa del neutrófilo, Interferón gamma (IFN- γ), proteín-cinasa, tromboxanos, factor activador de plaquetas, moléculas de adhesión soluble, neuropéptido vasoactivo, fosfolipasa A2, tirosin-cinasa, radicales libres, neopterina, CD14, prostaciclina, prostaglandina ^{1, 6, 7, 26-32}.

Moléculas anti-inflamatorias

IL-4ra, IL-4, IL-10, IL-13, factor transformador del desarrollo, epinefrina, proteínas ligadoras de lipopolisacáridos ^{1, 6, 7}.

Principales citocinas involucradas en la fisiopatogenia del SIRA

Factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α)

El TNF- α es un producto de los macrófagos, puede jugar un papel prominente en muchos casos de SIRA. El líquido del lavado broncoalveolar (LBA) y plasma de pacientes con SIRA frecuentemente contiene concentraciones incrementadas de esta citocina ^{20, 26-34}.

El TNF- α funciona como un punto de disparo para la generación de otros mediadores inflamatorios; estimula macrófagos para que liberen IL-1, IL-6, factor activador de plaquetas, metabolitos del ácido araquidónico y factores de crecimiento. El TNF- α también puede inducir a las células endoteliales para que liberen factor quimiotáctico para neutrófilos ²⁰.

Interleucina 1 (IL-1)

La IL-1 es otra citocina de respuesta temprana que se ha relacionado con la patogénesis de SIRA. Muchos de los estímulos que inducen la liberación de TNF- α de los macrófagos, también inducen la secreción de IL-1. Además, el propio

TNF- α provoca la síntesis y secreción de IL-1. La IL-1 comparte muchas propiedades con TNF- α , en particular, induce el reclutamiento y activación de neutrófilos ^{20, 26-34}.

Interleucina 8 y 12 (IL-8, IL-12)

Algunos estudios del LBA de pacientes con SIRA revelaron primeramente la presencia de un péptido no identificado con actividad quimiotáctica ²⁴. Posteriormente se identificó como la IL-8 ¹⁹. La IL-8, es un miembro de la familia de las quimiocinas, producto de monocitos/macrófagos, células endoteliales, fibroblastos y células epiteliales. Su secreción es regulada por TNF- α e IL-1. A diferencia de TNF- α e IL-1, que parecen ser rápidamente inhibidos después de la activación, los niveles de IL-8 permanecen elevados por largos periodos. La IL-8 también ha sido detectada en el plasma de pacientes con SIRA ^{19, 28-29, 33-35}.

La IL-12 ha sido identificada como citocina participante en el proceso inflamatorio en una etapa posterior a la liberación de IL-8 y TNF- α , las cuales activan su liberación, potenciándose así la respuesta inflamatoria ^{36 - 37}.

Interleucina 4 y 10 (IL-4, IL-10)

Son citocinas liberadas dentro de la respuesta contrareguladora o anti-inflamatoria desencadenada por la respuesta inflamatoria previa, intensificada por el TNF- α , y las interleucinas potenciadoras, desempeñando el papel principal como inmunosupresoras de tal respuesta. Las interleucinas 4 y 10 en estudios en adultos han demostrado una mayor secreción entre las 48 a 72 horas posteriores al inicio de la respuesta inflamatoria ^{38 - 40}.

Estudios sobre el comportamiento de las citocinas en pacientes con SIRA

Desde 1992 se han realizado estudios ^{28-30,33-35,41-43} donde se han medido las concentraciones de diferentes citocinas que participan en el SIRA; estos estudios se han llevado a cabo principalmente en Estados Unidos de Norteamérica y en Europa .

En la mayor parte de los estudios se han incluido adultos, solamente un estudio ha sido realizado en niños ⁴³. En general, los estudios son de pacientes hospitalizados en unidades de terapia intensiva (UTI), con intubación endotraqueal y, la mayoría, con diagnóstico de SIRA ya establecido ^{28,29,35,41- 43}. En otros estudios se han evaluado sujetos intubados antes del inicio del SIRA ^{30,33,34}, con seguimiento hasta el desarrollo de SIRA o la muerte. En algunos se contrastaron con sujetos sanos no intubados como grupo control ³⁴. En ninguno se ha incluido como variable de inicio o de estudio la LPA.

Por el tipo de diseño, hay estudios de cohorte ^{28,29,34,35,41-43}, donde la variable de resultado es pronóstico (muerte o sobrevida) después de haberse desarrollado el SIRA. En otros dos ^{30,33}, también de cohorte, la variable dependiente fue SIRA, a partir de ser sujetos hospitalizados en la UTI. Se han comparado los resultados con grupos de sujetos con neumonía ³³. Por número de sujetos, los estudios han variado de 12 a 31; mientras que el tiempo de reclutamiento de los pacientes ha sido entre 18 meses y cuatro años.

Se han realizado estudios donde se han medido concentraciones de citocinas; sin embargo, la mayoría han evaluado citocinas pro-inflamatorias: IL-1, IL-2, IL-6, IL-8 y TNF- α ; y sólo en dos citocinas anti-inflamatorias como la IL-4 ^{41,42}. De los

estudios reportados, en cuatro se incluyó IL-8; IL-1 e IL-6 se han considerado en cinco; IL-2 e IL-4 en dos y por último el TNF- α en siete.

Los métodos para determinar la concentraciones de las citocinas han sido mediante ELISA. Los líquidos donde se han obtenido las muestras son de LBA; y en suero. La determinación ha sido en picogramos y nanogramos por mililitro.

El intervalo de la toma de muestras se ha realizado diariamente, tanto en suero como en LBA,^{29,30,33-35} hasta la muerte o decanulación. En un estudio se tomaron muestra cada tercer día, a partir de establecer el diagnóstico de SIRA, hasta la muerte o decanulación²⁸. En tres estudios^{35,41,42} fue en los días 1,2 y 3, posteriormente en los días 5,7,10 y 12 a partir del SIRA.

Respecto a los resultados encontrados, se ha observado que existe un incremento mayor de la concentración de IL-1, IL-6, IL-8 y TNF- α , tanto en LBA como en el suero, en los pacientes que desarrollaron SIRA en comparación a los que no lo desarrollaron. Este mismo fenómeno se ha visto relacionado con mayor mortalidad^{28,29,41,42}, después de haberse instalado el SIRA.

Por otro lado, en los pacientes que además del SIRA tienen neumonía y/o sepsis, el incremento de la concentración de las citocinas es aún mayor^{33,35}. Sin embargo, algunos autores^{33,35} han encontrado que en presencia únicamente de SIRA, las concentraciones de citocinas en LBA se modifican más que las séricas. La descripción en los diferentes artículos sobre el comportamiento de las citocinas, no es clara. Algunos solamente indican que la elevación en las primeras 72 horas tiene un factor predictor de muerte²¹; otros describen que las concentraciones de IL-8 y el TNF- α se encuentran persistentemente, incrementadas desde el desarrollo de SIRA hasta que ocurre la muerte^{41, 42}.

En las referencias de Medury y col. ^{41,42}, en un principio, las concentraciones de IL-4 no se modificaron después del diagnóstico de SIRA, pero alrededor del tercer día empezaron a incrementarse.

En niños con SIRA, en el único estudio realizado ⁴³ en donde se midieron las concentraciones de las citocinas IL-1, IL-6 y TNF- α , se demostró que los niveles de IL-6 estuvieron incrementados durante las primeras 72 horas del inicio del SIRA, sin mostrar un valor predictivo para muerte; además de que no encontraron diferencias en las concentraciones de IL-1 y TNF- α entre los que sobrevivieron y fallecieron.

JUSTIFICACIÓN

Se ha considerado que la respuesta inflamatoria que se genera en los pacientes que desarrollan SIRA es similar a lo que ocurre en el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica. Esta teoría no ha podido ser demostrada totalmente, ya que en los diferentes estudios publicados no se ha evaluado el comportamiento de las concentraciones de citocinas tanto pro como anti-inflamatorias que participan en este proceso, al mismo tiempo en que ocurre el evento de SIRA. Tampoco existe información relacionada con la evolución o comportamiento de la concentración de tales citocinas en un momento inicial del SIRA; momento que pudiera corresponder al inicio de la LPA y que podría evolucionar hacia el desarrollo de SIRA.

El conocimiento sobre el comportamiento de la respuesta tanto pro-inflamatoria como anti-inflamatoria mediante los marcadores biológicos específicos (citocinas) es importante porque podría mejorar la predicción de la evolución clínica hacia SIRA en el paciente con factores de riesgo; se ampliaría el conocimiento acerca de la patogénesis del SIRA; podría coadyuvar a predecir el pronóstico de los pacientes una vez que el SIRA se ha desarrollado; lo cual podría originar el desarrollo de estudios sobre terapéutica.

Si bien, la fisiopatología debe ser similar en adultos y en niños, existe poca información en edad pediátrica sobre esta respuesta pro y anti-inflamatoria de los pacientes que desarrollan SIRA, por lo que son necesarios más estudios en la edad pediátrica para describir el comportamiento de las concentraciones de citocinas en el paciente con LPA que desarrolla el SIRA.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Hasta el momento existe poca información de la participación y las modificaciones en las concentración de citocinas pro y anti-inflamatorias para el desarrollo del síndrome de insuficiencia respiratoria (SIRA), a partir de la lesión pulmonar aguda (LPA). En general, los estudios realizados describen que las citocinas pro-inflamatorias y anti-inflamatorias se incrementan después de que se diagnostica SIRA; pero, con respecto a lo que ocurre en los pacientes pediátricos con LPA que potencialmente pueden evolucionar hacia SIRA, la información es escasa, por lo que surgen las siguientes interrogantes:

1.-¿Cuál es el comportamiento de las concentraciones séricas y en LBA de las citocinas pro-inflamatorias (TNF- α , IFN- γ , IL-12p70) y anti-inflamatorias (IL-4 e IL-10) en pacientes pediátricos con LPA que desarrollan o no desarrollan SIRA?

2.-¿Cuál es el comportamiento de las concentraciones séricas y en LBA de las citocinas pro-inflamatorias (TNF- α , IFN- γ , IL-12p70) y anti-inflamatorias (IL-4 e IL-10) en pacientes pediátricos con SIRA que fallecen o se recuperan?

OBJETIVOS

1. Determinar el comportamiento de la concentración de las citocinas pro-inflamatorias (TNF- α , IFN- γ , IL-12p70) en LBA y en suero de pacientes pediátricos que desarrollan y no desarrollan SIRA, una vez instalada la LPA.
2. Determinar el comportamiento de la concentración de las citocinas anti-inflamatorias (IL-4 e IL-10) en LBA y en suero de pacientes pediátricos que desarrollan y no desarrollan SIRA, una vez instalada la LPA.
3. Determinar el comportamiento de la concentración de las citocinas pro-inflamatorias (TNF- α , IFN- γ , IL-12p70) en LBA y en suero entre los pacientes que fallecen y los que se recuperan, una vez desarrollado el SIRA.
4. Determinar el comportamiento de la concentración de las citocinas anti-inflamatorias (IL-4 e IL-10) en LBA y en suero entre los pacientes que fallecen y los que se recuperan, una vez desarrollado el SIRA.

HIPÓTESIS

1. Las concentraciones de las citocinas pro-inflamatorias tanto en LBA y en suero se encuentran persistentemente incrementadas en los pacientes pediátricos con LPA que desarrollan SIRA mientras que en aquéllos que no lo desarrollan se espera un descenso rápido en los primeros días.
2. Las concentraciones de citocinas anti-inflamatorias tanto en LBA y en suero comienzan a incrementarse después de las primeras 48 horas que se instala LPA teniendo concentraciones mayores en los niños que no desarrollan SIRA.
3. Las concentraciones de las citocinas pro-inflamatorias tanto en el LBA y en suero son mayores entre los pacientes con SIRA que fallecen en comparación de los que se recuperan.
4. Las concentraciones de las citocinas anti-inflamatorias tanto en el LBA y en suero son mayores entre los pacientes con SIRA que se recuperan en comparación de los que fallecen.

PACIENTES Y MÉTODOS

Se diseñó un estudio de cohorte prospectivo, longitudinal, descriptivo y comparativo entre el período comprendido del primero de julio de 1999 al 30 de junio del 2001 en la Unidad de Terapia Intensiva (UTIP) del Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI.

El Hospital de Pediatría es un centro de referencia de tercer nivel de atención médica, que recibe pacientes procedentes de hospitales generales de zona del sur de la ciudad de México y de los estados de Querétaro, Morelos, Chiapas y Guerrero. Antes del inicio del estudio, el protocolo fue aprobado por el Comité de Investigación del mismo hospital.

Pacientes. La cohorte se integró con pacientes pediátricos de uno y otro sexo, menores de 17 años. Para su inclusión, los pacientes cumplieron los criterios establecidos por el Consenso Americano-Europeo para el diagnóstico de LPA o SIRA³. Los pacientes debieron tener una línea de acceso venoso central para toma de muestras sanguíneas y estar intubados. No se incluyeron pacientes con antecedentes de enfermedad pulmonar obstructiva o restrictiva crónica, con antecedente de asma bronquial, falla cardíaca congestiva o con cardiopatía congénita con flujo pulmonar aumentado.

Vigilancia. Todos los pacientes que ingresaron a la UTIP y cumplieron con los criterios de selección fueron vigilados diariamente. En el momento en que se estableció el diagnóstico de LPA se solicitó el consentimiento informado a los padres de los pacientes para poder incluirlos en el estudio. Posteriormente, se inició la recolección de la información en formatos previamente diseñados, y la toma de muestras sanguíneas y de lavado broncoalveolar. La información que se recolectó se describe en las siguientes variables.

Variables del estudio

Variables independientes:

- Lesión pulmonar aguda (LPA).
- Síndrome de insuficiencia respiratoria aguda (SIRA).

Variables dependientes:

- Concentración de citocinas pro-inflamatorias (TNF- α , IFN- γ , IL-12p70) y anti-inflamatorias (IL-4, IL-10) en suero y en LBA en pacientes con LPA.
- Concentración de citocinas pro-inflamatorias (TNF- α , IFN- γ , IL-12p70) y anti-inflamatorias (IL-4, IL-10) en suero y LBA en pacientes con SIRA.

Variables universales:

- Sexo
- Edad.
- Enfermedad preexistente o subyacente.
- Motivo de ingreso a la UTIP.
- Causa de LPA.
- Estado de gravedad medido mediante la Escala de PRISM.
- Días de asistencia ventilatoria mecánica.
- Días de duración del evento de LPA o SIRA.

Definición de las variables

Lesión Pulmonar Aguda y Síndrome de Insuficiencia Respiratoria Aguda

Definición: El diagnóstico de la Lesión Pulmonar Aguda (LPA) o Síndrome de Insuficiencia Respiratoria Aguda (SIRA) se realizó utilizando las definiciones del Consenso Americano-Europeo sobre SIRA que considera: síndrome de establecimiento agudo, con una relación PaO₂/FiO₂ en gasometría arterial de 200 a 300 mmHg (para LPA) y < de 200 mmHg (SIRA) a pesar de un buen nivel de la presión positiva al final de la expiración. Radiografía frontal de tórax que mostrara infiltrados difusos bilaterales, presión en cuña de la arteria pulmonar menor de 18 mmHg o sin evidencia clínica de hipertensión atrial izquierda ⁶.

Se reportó la presencia de una u otra entidad.

Escala: nominal, dicotómica.

Unidades: LPA, SIRA.

Concentración de citocinas pro-inflamatorias

Definición: Factores endógenos liberados en la respuesta inflamatoria aguda tanto a nivel sistémico como local; los cuales, tienen como finalidad reclutar células participantes en la inflamación, así como potenciar la respuesta inmune para contrarrestar el daño. La concentración de TNF- α , IFN- γ e IL-12p70 se midieron mediante ELISA, tanto en suero como en LBA una vez que se inició la LPA cada 12 horas hasta el desarrollo de SIRA, recuperación de la LPA o muerte.

Escala: cuantitativa, continua.

Unidades: picogramos por mililitro (pg/mL)

Concentración de citocinas anti-inflamatorias

Definición: Factores endógenos liberados controlar o inmunosuprimir la respuesta inflamatoria, con el fin de guardar un equilibrio inmunológico en el huésped. La concentración de IL-4 e IL-10 se midieron mediante ELISA, tanto en suero como en LBA una vez que se inició la LPA cada 12 horas hasta el desarrollo de SIRA, recuperación de la LPA o muerte.

Escala: cuantitativa, continua.

Unidades: picogramos por mililitro (pg/mL)

Enfermedad preexistente o subyacente

Definición: Se consideró a la enfermedad que presentó el paciente diagnosticada varios meses o años atrás, entre ellas cáncer, cardiopatía congénita con flujo pulmonar normal o bajo, malformaciones genéticas, diabetes mellitus, infecciosas, insuficiencia renal o pancreatitis crónica.

Escala: nominal.

Unidades: cáncer, cardiopatía congénita, etc.

Motivo de ingreso a la UTIP

Definición: Se consideró la condición clínica que ocasionó que el paciente fuera ingresado a la UTIP agrupándose en: compromiso ventilatorio, quirúrgico, hemodinámico y neurológico.

Escala: nominal.

Unidades: Deterioro hemodinámico, deterioro neurológico, etc.

Causa de la LPA o SIRA

Definición: Entidad patológica que causó el desarrollo de la LPA o SIRA, pudiéndose clasificar como pulmonar o extrapulmonar. Entre las pulmonares: infecciosas, traumáticas, hemorrágicas, quirúrgicas; entre las extrapulmonares sepsis con foco infeccioso en otro lugar fuera del pulmón, traumáticas, quirúrgicas, síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, etc.

Escala: nominal.

Unidades: Se reportó la causa.

Estado de gravedad medido mediante escala de PRISM

Definición: Escala puntual que permite valorar el estado fisiológico por la afectación de uno o más aparatos o sistemas vitales. valora 14 variables para cinco sistemas (seis parámetros clínicos y ocho variables de laboratorio que determinan el comportamiento metabólico, respiratorio y hematológico⁴⁴).

Escala: cuantitativa, discreta.

Unidades: Puntuación obtenida.

Días de asistencia ventilatoria mecánica

Definición: Número de días que el paciente requirió de estar asistido con ventilación mecánica mientras tuvo LPA o SIRA.

Escala: cuantitativa, discreta.

Unidades: número de días.

Días de duración de la LPA o SIRA

Definición: Tiempo transcurrido desde el diagnóstico de LPA o SIRA, hasta el momento de la remisión o fallecimiento.

Escala: cuantitativa, discreta.

Unidades: número de días.

DESCRIPCIÓN DE LAS TÉCNICAS EMPLEADAS

Obtención del líquido del Lavado Broncoalveolar (LBA)

Se realizó la técnica propuesta por Kotecha ⁴⁵ y Viscardi ⁴⁶ tomando muestras de LBA cada 12 horas desde el momento del diagnóstico de LPA hasta la extubación o muerte del paciente.

La toma de la muestra de LBA se realizó en la UTIP por el investigador principal apoyado por el grupo de enfermería. Durante la maniobra el paciente tuvo sedación y relajación farmacológica, así como monitoreo no invasivo de signos vitales. Se mantuvo al paciente en posición supina, manteniendo la cabeza en la línea media.

Se instiló 0.5ml de solución salina al 0.9% dentro de la cánula endotraqueal, aplicándose tres insuflaciones con bolsa con reservorio de oxígeno; posteriormente se procedió a la aspiración del líquido broncoalveolar con un catéter de succión estéril (a través de la misma cánula), el cual fue colectado en una trampa de Lucke esterilizada. El procedimiento fue repetido de cuatro a cinco ocasiones girando la cabeza hacia uno y otro lado, en cada instilación de solución salina para obtención de la muestra necesaria.

La muestra obtenida se filtró a través de una gasa estéril para separar el exceso de mucosidad; enseguida fue vertida en un tubo de ensayo. Los tubos se identificaron con los datos del paciente y el número de muestra recolectada. Finalmente, el líquido se centrifugó a 2,000 rpm durante 10 minutos a 4°C (centrífuga marca Hettich), para separar detritus celulares del fluido rico en proteínas y componentes inflamatorios. Se hicieron alícuotas y se mantuvieron a una temperatura de -70°C en equipos de congelamiento Revco, hasta el momento en que fueron realizados los ensayos para cuantificar las citocinas y proteínas en su contenido.

Se identificaron también muestras de 24 controles sanos; sujetos sometidos a cirugía electiva, sin foco infeccioso clínico evidente. Las muestras se tomaron al momento de intubación endotraqueal previo al acto quirúrgico.

Obtención de la muestra sanguínea

La muestra sanguínea se obtuvo de manera paralela a la realización del LBA. En total se extrajeron tres mililitros de sangre del paciente cada 12 horas, a través de una línea del catéter venoso central previamente permeabilizado y lavado (para no obtener sangre mezclada con medicamentos u otras soluciones). La muestra fue vertida en un tubo de ensayo y centrifugada a 2500 rpm durante 15 minutos; se recuperó el suero, se hicieron alícuotas, y se identificaron. Las muestras obtenidas se almacenaron a una temperatura de -70°C, hasta su análisis por inmunoensayo para la cuantificación de citocinas.

Al igual que para el LBA, se tomaron muestras sanguíneas en los pacientes sometidos a intervención quirúrgica electiva, que sirvieron como controles sanos.

Detección de citocinas en LBA

La detección de citocinas se realizó en la Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI mediante ELISA, empleándose reactivos de marca Pharmingen (EUA), basado en la técnica inmunoenzimática cuantitativa de sándwich.

Las muestras se descongelaron a 20°C en temperatura ambiente para detectar las concentraciones de citocinas TNF- α , IFN- γ , IL-12p70, IL-4 e IL-10 en los sobrenadantes del líquido del LBA y se analizaron por duplicado. Los ensayos se realizaron por comparación contra concentraciones estándar de la citocina a determinar, incluidas en los estuches de detección de las mismas. Se realizaron curvas estándar, graficando la densidad óptica a 405 nanómetros determinada en un lector para placas ELISA, contra la concentración conocida de la citocina. Las diferentes concentraciones del estándar fueron colocadas en la misma placa en la que fueron colocadas las muestras de los pacientes, así como muestras de controles sanos. Los resultados cuantitativos de las muestras de los pacientes y controles sanos se obtuvieron al interpolar en la ecuación de la recta obtenida de la curva estándar.

Para apoyar la confiabilidad de la muestra del LBA obtenida, se realizó la determinación cuantitativa de proteínas mediante espectrofotometría. Se midió la reacción de floculación que se presenta entre las proteínas en el LBA y el ácido sulfosalicílico, interpolando la densidad óptica en una curva estándar realizada con albúmina humana, medida en mg/dL.

Detección de citocinas en suero

Las concentraciones de citocinas en suero se determinaron por duplicado mediante ELISA; se midieron TNF- α , IFN- γ , IL-12p70, IL-4 e IL-10. Los procedimientos para la estandarización y cuantificación fueron idénticos a los establecidos para la detección de citocinas en LBA.

Validación de la detección de las citocinas

Debido a que cada medición se realizó por duplicado, el valor que se utilizó para el análisis fue el promedio de ambos valores. Esto se decidió después de realizar una comparación de la primera con la segunda medición, mediante una correlación con el coeficiente de correlación intraclase y análisis de varianza de medidas repetidas. Todos los coeficientes obtenidos, tanto de LBA como de suero, fueron mayores de $r = 0.96$ y; no se observó diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) en el análisis de varianza.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Análisis descriptivo. Se determinó el tipo de distribución mediante el cálculo de sesgo y curtosis. Las variables cuantitativas no tuvieron una distribución normal, realizándose medidas de tendencia central (mediana) y de dispersión (límite intercuartílico, LIQ).

Análisis inferencial. Para la comparación de las concentraciones de las citocinas entre los pacientes con LPA que se recuperaron contra los que desarrollaron SIRA, tanto séricas como de LBA, se utilizó el análisis de comparación para dos grupos independientes U de Mann-Whitney; mientras que para la comparación de tres grupos se realizó con H de Kruskal-Wallis. Un valor de $p \leq 0.05$ se consideró como significativo.

RESULTADOS

Durante el período de 24 meses se incluyeron 38 pacientes que cumplieron los criterios de LPA. Esto representó el 0.3% (38/13,014) de los egresos hospitalarios y el 3.5% (38/1,076) de los egresos de la UTIP. En el Cuadro 1 se describen las características generales de los pacientes incluidos; 20 (53%), fueron del sexo masculino y; la mayoría lactantes: 16/38 (42%). La mediana de edad fue de 23 meses (LIQ: 10.5-102). En más de la mitad de los casos había alguna enfermedad preexistente; la enfermedad más frecuente fue el cáncer (21%), seguido por la cardiopatía congénita (10%). El compromiso respiratorio fue el motivo más frecuente de ingreso a la UTIP (20 pacientes), mientras que la causa más frecuente de LPA fue algún trastorno pulmonar (22 pacientes, 58%), de los cuales en 16 fue secundario a infección. La mediana del tiempo transcurrido desde el ingreso a la UTIP y el desarrollo de LPA fue de seis días (LIQ: 3.5 – 10.5).

Con respecto a la evolución durante el periodo de vigilancia (Fig. 1), de los 38 pacientes con LPA uno falleció dentro de las primeras 24 horas sin desarrollar SIRA. Veinticinco pacientes (66%) se mantuvieron durante todo el tiempo con LPA, y fueron recuperándose de uno a 12 días (Md = 5) después de iniciado el cuadro clínico. Por último, 12 (31%) pacientes evolucionaron a SIRA; en tres, el tiempo que transcurrió a partir de LPA para el desarrollo de SIRA fue de 12 horas y en dos hasta de tres días. De los pacientes con SIRA, seis (50%) fallecieron, lo cual ocurrió a partir del primer día de haberse desarrollado. En los seis restantes, se inició su recuperación a partir del tercer día (Fig. 2).

El estado de gravedad (Fig. 3), de acuerdo con la calificación de PRISM, en el momento del diagnóstico de LPA varió de 22 a 44 puntos (Md 32; LIQ: 26-33). En la cohorte de pacientes que se mantuvieron con LPA sin desarrollar SIRA, el estado de gravedad progresivamente disminuyó; así, el valor al séptimo día fue de cinco puntos en un paciente. En el caso de los pacientes que evolucionaron a SIRA, la mediana de la puntuación de PRISM en el momento de su inicio fue de 28 puntos (LIQ: 14.7-37.7); entre los que evolucionaron a la recuperación se observó una disminución progresiva hasta una mediana de siete, para el séptimo día. En el grupo que falleció, el PRISM mostró un incremento constante hasta de 42 puntos.

Evolución de las concentraciones de citocinas

Factor de necrosis tumoral alfa (TNF)

Al inicio, en la cohorte de pacientes con LPA, la mediana de la concentración sérica de TNF fue de 455.8 pg/mL (LIQ: 299.1 - 533.2); la evolución de la concentración tuvo una tendencia al incremento, a pesar que en la segunda medición se observó una disminución a 380 pg/mL. La elevación posterior llegó a su máximo hacia el tercer día: 524.9 pg/mL (LIQ 355.1 - 694.8), posteriormente la tendencia fue a la disminución. Durante los siete días de vigilancia, en el grupo con SIRA las concentraciones fueron similares a los que no desarrollaron el SIRA (Fig. 4).

Aunque inicialmente las concentraciones en el grupo de pacientes con SIRA que se recuperó fueron más bajas que las del grupo con SIRA que falleció (Md 373.4 vs. 473.6) sí hubo incrementos sustanciales entre el segundo y cuarto día (Md

561.0 y 732.5 pg/mL, respectivamente) (Fig. 5). En cambio, en el grupo que falleció se observó entre el tercer y cuarto día un descenso importante en la concentración, hasta de 192.4 pg/mL, para regresar aproximadamente a los valores iniciales (450 pg/mL). Las diferencias entre los dos grupos no fueron significativas.

En el LBA, las concentraciones de TNF (Fig. 6) fueron casi al doble que las obtenidas en suero en el primer día de vigilancia; para el grupo de LPA la mediana de concentración de TNF fue de 986.6 pg/mL (LIQ: 852.1 - 1251.4); posteriormente hubo una disminución paulatina, llegando hasta la mitad de los valores presentados en un inicio (Md 509.2 pg/mL). En el grupo que desarrolló SIRA, las concentraciones fueron mucho mayores durante todo el seguimiento, llegando a 1835.5 pg/mL entre el tercer y cuarto día. La diferencia de las concentraciones entre el grupo de LPA y SIRA tuvo significancia estadística ($p < 0.05$) en cada medición.

También en el LBA, tanto el grupo de SIRA que se recuperó como el que falleció, la mediana de concentración de TNF tuvo un comportamiento hacia el incremento (Fig. 7). En todas las mediciones, la concentración fue mayor en el grupo que se recuperó. Sin embargo no hubo diferencia estadística. En ambos grupos las concentraciones mayores se obtuvieron entre el tercer y cuarto día (Md 1835.5 y 1569.1 pg/mL, respectivamente).

Interferón gamma (IFN)

En el inicio de LPA (Fig. 8), la mediana de las concentración sérica de IFN fue de 42.5 pg/mL (LIQ: 22.2 – 61.2); después se observó una disminución entre el

primer y segundo día hasta de 24.5 pg/mL. Entre los pacientes que continuaron con LPA, en el día dos se observó un incremento (Md 60 pg/mL; LIQ: 33.1 - 88) para, posteriormente, tener una disminución paulatina llegando a 6.3 pg/mL en el día siete de su evolución. En el grupo de SIRA, durante todo el periodo de vigilancia las concentraciones de IFN fueron mayores que el grupo de LPA; sin embargo sólo se encontró diferencia estadística ($p = 0.03$) justo en el momento previo a la detección clínica de SIRA (24.5 vs. 69.8 pg/mL). En las mediciones subsecuentes la tendencia fue hacia el incremento, llegando a su nivel más alto entre el cuarto y quinto día (84.7 pg/mL, LIQ: 31 - 132.7).

Las concentraciones séricas de IFN en los pacientes con SIRA que se recuperaron en comparación con los que fallecieron fueron diferentes durante los primeros momentos (Fig. 9). En el inicio del SIRA la concentración sérica del primer grupo fue semejante a los pacientes con LPA; mientras que en el grupo que falleció la concentración fue aproximadamente del doble (Md 41.8 vs. 88.5 pg/mL, respectivamente), pero no hubo diferencia estadística ($p = 0.39$). En las mediciones subsecuentes, los valores del grupo que falleció se mantuvieron muy elevados; sin embargo, a partir del cuarto día en ambos grupos la concentración tuvo un comportamiento similar; y a partir del quinto día, los niveles fueron similares a los del grupo con LPA.

En general, en comparación a lo descrito en el suero, las concentraciones en el LBA de IFN fueron mayores (Fig. 10). En el grupo con LPA, el valor más alto se observó en el inicio (Md 83.3 pg/mL; LIQ: 61.2 - 149.8); después hubo una disminución paulatina, siendo los niveles para el día siete de 32.3 pg/mL. El comportamiento del grupo con SIRA fue muy distinto, la tendencia durante todas

las mediciones fue hacia el incremento progresivo, de 71.6 pg/mL (LIQ: 54.2 - 117.6) en el día dos, hasta 142 pg/mL (LIQ: 118.1 - 170.1) en el día cinco. En la mayoría de los momentos evaluados, la comparación de la concentración entre el grupo de LPA y SIRA fue estadísticamente significativa ($p < 0.05$).

En cuanto al grupo SIRA, las concentraciones de IFN en el LBA fueron similares entre el grupo con SIRA que se recuperó y el que falleció (Fig. 11), con excepción de la medición en el inicio del SIRA, cuando la concentración fue mayor en el grupo que se recuperó (Md 115 vs. 57.8 pg/mL; $p = 0.28$).

Interleucina 12p70 (IL-12)

La mediana de la concentración sérica de IL-12 en el grupo de pacientes con LPA, al inicio fue de 150.9 pg/mL (LIQ: 86.6 - 259.4); en las mediciones subsecuentes tuvieron una tendencia a la disminución, llegando entre el cuarto y quinto día a 56.7 pg/mL, en un paciente (Fig. 12). A partir de este momento se observó un incremento muy importante hasta de 482.8 pg/mL hacia el séptimo día de evolución. Mientras que, en el grupo que desarrolló SIRA, durante casi toda la vigilancia las concentraciones fueron mayores al grupo de LPA; en un inicio la concentración fue prácticamente al doble (180.9 vs. 98.7 pg/mL) lo cual fue estadísticamente significativo ($p = 0.03$). A partir del quinto día se presentaron incrementos importantes tanto en el grupo de SIRA y de LPA, llegando a valores similares (Md 454.9 vs. 434.1 pg/mL) en el sexto día de evolución.

Cuando se compararon los valores de la concentración sérica de IL-12 de los pacientes con SIRA que se recuperaron y los que fallecieron (Fig. 13), se observó que el grupo que falleció tuvo concentraciones mayores desde el inicio (Md 139.5

vs. 253.3 pg/mL, respectivamente) y hasta el final (Md 195.4 vs. 308.6 pg/mL); sin embargo, estas diferencias no fueron significativas ($p > 0.05$).

En cuanto al LBA (Fig. 14), en un inicio, en el grupo de pacientes con LPA la mediana de concentración de IL-12 fue de 203.8 pg/mL (LIQ: 173 - 249.1), con una tendencia a la disminución en las mediciones subsecuentes, siendo entre el día tres y cuatro la más baja (Md 73.2 pg/mL; LIQ: 47.6 - 98.9); a partir de este momento hubo incrementos sustanciales hasta de 282.9 pg/mL (LIQ: 201.1 - 364.8). Durante todos los momentos evaluados los valores del grupo de SIRA fueron mayores que los del grupo LPA, lo cual fue estadísticamente significativo en la mayor parte de los momentos evaluados ($p < 0.05$). La concentración inicial del grupo de SIRA tuvo una mediana de 271.8 pg/mL (LIQ: 245.2 - 382.6), llegando a ser de más del doble que el grupo LPA hacia el tercer día de evolución (Md 359.3 pg/mL vs. 164.8 pg/mL). En contraste, como se observa en la Fig. 15, no hubo diferencias entre el grupo de SIRA que falleció y el grupo que se recuperó, aún cuando entre el tercer y quinto día de vigilancia se observaron concentraciones mayores en el primer grupo.

Interleucina 4 (IL-4)

La cohorte de 38 pacientes en el momento del diagnóstico de LPA presentó una mediana de concentración sérica de IL-4 de 47.5 pg/mL (LIQ: 43.4-59.1); en las siguientes mediciones no se observaron cambios sustanciales del valor inicial, la variación en la mediana de las concentraciones se ubicó entre 45 a 50 pg/mL. En el grupo que desarrolló SIRA, durante los siete días de seguimiento, las concentraciones fueron similares al grupo que se mantuvo con LPA (Fig. 16).

Al comparar las concentraciones séricas de IL-4 entre los pacientes con SIRA que se recuperaron y los que se murieron (Fig. 17), en general, en este último grupo, los valores fueron más bajos, pero en ninguno de los momentos evaluados hubo diferencia estadística. En cuanto a los valores en el LBA, en los pacientes con LPA, en el momento del diagnóstico, la mediana fue similar a la observada en el suero (Md 41.3 pg/mL; LIQ : 12.2-83.4) pero la evolución fue diferente. A partir de la cuarta medición, los valores descendieron llegando a los niveles más bajos entre el segundo y tercer día (Md 13.4 pg/mL; LIQ: 10.5-48.8); entre el cuarto y quinto día los niveles se incrementaron en forma paulatina hasta una mediana de 78.1 pg/mL en un paciente; y después empezaron nuevamente a disminuir. En cambio, el grupo de SIRA al inicio tuvo concentraciones muy superiores al grupo con LPA (Md 70.0 pg/mL; LIQ: 18.7-148.6) y se observaron valores significativamente más altos ($p = 0.029$) en el segundo y tercer día (Md 105.7 y 219.6 pg/mL, respectivamente), para luego ir disminuyendo. Aún cuando en el tercer y cuarto día se observaron las concentraciones mayores en el grupo de SIRA (Fig. 18), la diferencia no fue significativa ($p = 0.38$).

En el LBA, la concentración de IL-4 en el momento del inicio de SIRA en el grupo que se recuperó fue similar al que falleció (Fig. 19). En las siguientes mediciones, en ambos grupos se observó un incremento en las concentraciones, pero en el grupo que falleció el incremento fue mayor entre el tercer y cuarto día; hasta dos y media veces más que la concentración del grupo que se recuperó (Md 257.5 vs. 91.4 pg/mL); sin embargo, esta diferencia no fue significativa ($p = 0.08$).

Interleucina 10 (IL-10)

Al momento del diagnóstico de la LPA (Fig. 20), la mediana de la concentración de IL-10 en suero fue de 289.4 pg/mL (LIQ: 198.5 - 355.5). La evolución de la concentración tuvo una tendencia a disminuir a partir del tercer día, y el nivel más bajo se ubicó entre el cuarto y quinto día (79.6 pg/mL).

En el grupo que desarrolló SIRA, en un inicio se detectó concentraciones mayores (Md 353.9 pg/mL, LIQ: 222.0 - 422.1) en comparación al grupo con LPA (Md 263.23 pg/mL, LIQ: 154.7 - 321.7), sin presentar diferencia estadística ($p = 0.21$). Durante los siguientes seis días se observó una disminución progresiva a 214 pg/mL.

Al comparar las concentraciones séricas de los pacientes con SIRA que se recuperaron contra los que murieron (Fig. 21), se observó que los pacientes que murieron tuvieron niveles más bajos entre el segundo y tercer día, siendo los valores al inicio del SIRA de 418.9 vs. 316.2 pg/mL, respectivamente; no hubo diferencia estadística durante todos los momentos evaluados.

Las concentraciones de IL-10 en el LBA al inicio de la LPA fueron menores (Md 151.6 pg/mL, LIQ: 89.7 - 339.5) que las séricas (Fig.22). Durante los primeros tres días se observó una tendencia al incremento hasta de 200.6 pg/mL y, entre el cuarto y quinto día, un descenso importante (Md 56.5 pg/mL). Para el día siete hubo un incremento hasta de 424.7 pg/mL. En el momento del desarrollo del SIRA, las concentraciones fueron mayores (Md 398.4 pg/mL, LIQ: 335.3 - 439.4) que el grupo con LPA. Durante la vigilancia se observó una tendencia al incremento, llegando en el día seis a una concentración de 477.6 pg/mL. Solo

hubo diferencia estadística en el momento del desarrollo del SIRA, así como entre el tercer y cuarto día ($p < 0.05$).

En el grupo de SIRA que se recuperó; la concentración de IL-10 en el LBA fue diferente durante el seguimiento al grupo que falleció (Fig. 23). En un inicio, la concentración en el primer grupo fue de 352.5 pg/mL (LIQ: 277.7 - 389.8 pg/mL), con un incremento al tercer día a 449.1 pg/mL y una disminución en el quinto día (87.4 pg/mL). Por el contrario, en el grupo con SIRA que falleció la curva de las concentraciones siempre se mantuvo por arriba de 400 pg/mL; observándose una concentración inicial de 437.9 pg/mL (LIQ: 389.9 - 455.6) y un incremento sustancial para el quinto día (Md 558.7 pg/mL; LIQ: 396.5 - 633.2). No se encontraron diferencias significativas entre estos dos grupos.

Determinación de la concentración de proteínas totales

La concentración de proteínas totales al momento del inicio de la LPA fue de 895 mg/dL. En los pacientes que desarrollaron SIRA 1235 mg/mL a su inicio, incrementándose hasta valores de 2458 mg/mL al séptimo día de vigilancia.

Determinación de concentraciones de citocinas en sujetos del grupo control

La determinación de citocinas en los sujetos control fue la siguiente:

- a) En suero. TNF- α : 223.2 pg/mL ; IFN- γ : 9.8 pg/mL ; IL-12p70: 44.3 pg/mL ; IL-4: 23.7pg/mL ; IL-10: 131.5 pg/mL.
- b) En el LBA. TNF- α : 46.9 pg/mL ; IFN- γ : 8.3 pg/mL ; IL-12p70: 25.8 pg/mL ; IL-4: 11.2 pg/mL ; IL-10: 33.6 pg/mL.

DISCUSIÓN

El Síndrome de Insuficiencia Respiratoria Aguda se considera como la respuesta inflamatoria del pulmón a una gran variedad de insultos; en la cual se ha demostrado en estudios experimentales y en humanos que las citocinas juegan un papel desencadenante.^{1,2,4,6,15,33}. Tal respuesta inflamatoria pueden ser originada por diversas causas, incluyendo las infecciosas; su evolución es difícil de predecir; puede resolverse sin mayores problemas a través de una respuesta anti-inflamatoria compensatoria o, por el contrario, desencadenar una pérdida de la homeostasis inmunológica y llegar a la muerte^{23,25,48}.

Por otra parte, al estudiar estos procesos en su grado de complejidad e interacción, así como su evolución en cuanto al factor tiempo, hace aún más difícil el poder analizarlos completamente desde su inicio.

Con el fin de responder a los objetivos del presente trabajo; se inició la descripción y posteriormente el análisis respecto a la evolución de la respuesta pro y anti-inflamatoria en un modelo de LPA en pacientes pediátricos; incluyéndolos en el estudio al momento del diagnóstico de acuerdo a los criterios ya establecidos por el Consenso Americano-Europeo; siendo posible con esto, seguir el proceso de LPA desde su inicio hasta el desarrollo del SIRA, recuperación o muerte.

Para entender el fenómeno inmunológico que se desarrolla en la LPA y el SIRA, es necesario analizar la respuesta pro y anti-inflamatoria, así como sus interrelaciones, para finalmente explicar el desenlace; que puede ser hacia la homeostasis inmunológica o al desequilibrio total²³⁻²⁵.

La respuesta inflamatoria en la LPA y el SIRA tiene una red de señalización compleja entre diferentes citocinas (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α); así como con otros componentes pro-inflamatorios. La producción de citocinas puede llevarse a cabo tanto a nivel sistémico como local; este último, en el pulmón mediante células inflamatorias, células del epitelio pulmonar o fibroblastos ^{19- 21,48,49}.

Asimismo, la regulación de la producción de citocinas puede ocurrir por factores extrapulmonares; un ejemplo es el Factor Inhibidor de Macrófagos (MIF); una citocina reguladora producida por la hipófisis anterior y que se detecta en altas concentraciones en el líquido del LBA de pacientes con SIRA. Se sabe que esta citocina incrementa la producción de citocinas pro-inflamatorias, tales como IL-8 y TNF- α , pudiendo suprimir la inhibición de la secreción de citocinas mediada por glucocorticoides ⁵⁰.

Estudios recientes indican que el balance entre los mediadores pro y anti-inflamatorios es más importante que la producción misma de citocinas pro-inflamatorias ^{23,24,48}. Se han descrito muchos inhibidores endógenos de citocinas pro-inflamatorias, en este grupo se encuentra el receptor antagonista de IL-1, el receptor soluble de TNF- α , auto-anticuerpos contra IL-8 y citocinas anti-inflamatorias, en especial la IL-10 e IL-11 ^{52,53}.

La liberación de IL-10 es un factor importante para suprimir la producción de citocinas pro-inflamatorias, permitiendo generar un equilibrio entre SRIS y SRAC. Además, la IL-10 puede ejercer otras funciones protectoras, tales como: inhibición de las interacciones neutrófilos-endotelio y la inhibición de la proliferación de músculo liso vascular (el cual es un agente endógeno que regula la remodelación de las paredes de los capilares después de lesiones vasculares) ^{38- 40,48}. También

se ha observado, que la producción de IL-10 es con frecuencia proporcional a la liberación de IL-8 (como en los casos del evento miocárdico de isquemia-reperusión), siendo parte importante del mecanismo regulador natural del balance de mediadores pro y anti-inflamatorios ⁵⁴.

En este estudio, como parte del análisis del fenómeno pro-inflamatorio en los pacientes con LPA que desarrollaron SIRA también se evaluaron las concentraciones de TNF- α , IFN- γ e IL-12p70; se sabe que TNF- α es la citocina más importante en la fase inicial de la respuesta inflamatoria sistémica; una consecuencia indirecta de la acción de TNF- α es la producción de IFN- γ , el cual se consideró por mucho tiempo era producido por las células NK ²⁷.

Actualmente, se sugiere que el origen principal del IFN- γ proviene de las células NKT restringidas por CD1, mediante acción de ligandos, infecciosos o no infecciosos, sobre los monocitos/macrófagos y células dendríticas, a través de los receptores tipo Toll (TLRs). Éstos, al ser activados, inducen la producción de IL-12, que va a actuar sobre su propio receptor en las células NKT, las cuales probablemente ya están pre-activadas por la presentación de moléculas de naturaleza lipídica propias en el contexto CD1d de las células presentadora de antígeno; que indujeron, a su vez, a expresar el receptor de IL-12. Una vez unida la IL-12 a su receptor en las células NKT se produce IFN- γ ; el cual activa células NK a producir más IFN- γ , con lo que se puede activar al macrófago, con mayor producción de citocinas pro-inflamatorias ^{55,56}.

En este estudio se encontró, al inicio y durante la mayor parte del seguimiento, que las concentraciones de TNF- α , IFN- γ e IL-12p70 en los pacientes con LPA

que desarrollaron SIRA en el LBA, fueron dos a tres veces más altas en comparación con los que no desarrollaron SIRA. Estas diferencias en las concentraciones también se encontraron en el suero, horas antes del inicio del SIRA, pero sólo para IFN- γ e IL-12p70 y no para TNF- α . Estos resultados concuerdan con la fisiopatología del SIRA descrita en adultos, en la que se ha observado, que en los pacientes con una respuesta inflamatoria sistémica (independientemente de la causa), puede ser regulada mediante un proceso anti-inflamatorio compensatorio, y cuya manifestación es la disminución de las citocinas pro-inflamatorias. Esto último fue observado en este estudio; los pacientes con LPA que se recuperaron tuvieron concentraciones más bajas que los que desarrollaron SIRA.

Por otra parte, el hecho que en el suero la concentración de TNF- α no fuera tan alta como en el LBA, puede explicarse señalando que esta citocina pasa de la circulación sistémica al alveolo; donde, no sólo aumenta su presencia, sino que también actúa sobre su propio receptor en las células que han transmigrado a través del endotelio vascular, como consecuencia del proceso inflamatorio, produciéndose una mayor concentración de TNF- α a nivel pulmonar.

La respuesta pro-inflamatoria durante los tres primeros días de seguimiento posterior al desarrollo del SIRA, dada por las concentraciones de citocinas IFN- γ y de IL-12p70, entre los pacientes con SIRA que fallecieron en comparación los que se recuperaron fue dos a tres veces mayor a nivel sérico que en el LBA en el primer grupo. En contraste, durante toda la vigilancia, las concentraciones de TNF- α , tanto en suero como en el LBA, fueron siempre mayores en el grupo de

pacientes con SIRA que falleció en comparación al grupo de pacientes con SIRA que se recuperó. Lo anterior se explica porque en los pacientes con SIRA que fallecieron, el proceso inflamatorio sistémico se acentuó, ocasionando el Síndrome de Disfunción Orgánica Múltiple y, como consecuencia, la muerte.

Se observó también que las concentraciones de IFN- γ y de IL-12p70, medidas tanto en LBA como en suero, presentaron una tendencia al incremento de manera más tardía que la concentración de TNF- α . Este fenómeno se puede explicar, no sólo por el paso de tales citocinas del suero al alvéolo, sino también por la acción de TNF- α sobre las células que transmigraron al alveolo, las cuales más tardíamente produjeron *in situ* mayor concentración de IFN- γ e IL-12p70.

Tradicionalmente, las citocinas han sido clasificadas en pro y anti-inflamatorias, basadas en el efecto sobre modelos animales o directos (*in vitro*) sobre poblaciones individuales de células inmunes. Esta simple dicotomía para las diferentes citocinas no puede ser total, debido a su carácter pleiotrópico, como el caso de la IL-10. Si bien, la IL-10 se ha considerado como inmunosupresora, no hay que olvidar su doble papel, pues también es un potente estimulador de células NK, para contribuir a la eliminación de patógenos.

En nuestro estudio, dado que la IL-10 fue analizada como parte de la respuesta inmune innata, su función fue asociada a su carácter anti-inflamatorio al considerarla principalmente tanto como inhibidora de la activación de NF- κ B, como de la expresión de TNF- α y de IL-12. Al realizar el análisis de la IL-10 junto con la IL-4 para valorar el fenómeno anti-inflamatorio entre los pacientes que desarrollaron SIRA y quienes se recuperaron de LPA, se encontraron diferencias

mayores de las concentraciones entre los dos grupos en el LBA que en el suero; entre el segundo y cuarto día las concentraciones fueron dos o tres veces superiores en el grupo que desarrolló SIRA.

La concentración mayor, tanto de citocinas pro-inflamatorias como anti-inflamatorias, en el LBA en los pacientes con LPA que desarrollaron SIRA, se explica, no sólo por el proceso agudo en el órgano de choque como es el pulmón, sino también porque la IL-10 puede tener una doble función: primero anti-inflamatoria y después pro-inflamatoria, a través de su acción sobre las células NK, induciendo la producción de IFN- γ y de las otras citocinas pro-inflamatorias.

En cuanto al proceso anti-inflamatorio (evaluado mediante IL-4 e IL-10), al comparar los pacientes con SIRA que fallecieron con los que se recuperaron, se observaron algunas diferencias significativas en el LBA, pero no en el suero. Se encontraron concentraciones de IL-4 en el LBA dos a tres veces más altas entre el tercer y cuarto día en los pacientes con SIRA que fallecieron; lo mismo sucedió con las concentraciones de IL-10. Ambas tuvieron una tendencia a permanecer incrementadas en este último grupo. En cambio, en el grupo de pacientes con SIRA que se recuperaron, hubo una tendencia a la disminución en la concentración de IL-10 en el LBA, de manera importante a partir del tercer día de haberse iniciado el SIRA. Por otro lado, es conveniente mencionar que a nivel sérico las concentraciones de las citocinas anti-inflamatorias IL-4 e IL-10, que en el inicio del SIRA tuvieron menores concentraciones en el grupo de pacientes que fallecieron, a partir del segundo día de iniciado el SIRA empezaron a incrementarse, llegando a ser 10 a 20% más altas que las concentraciones del

grupo de pacientes con SIRA que se recuperó, durante la mayor parte del seguimiento.

Al tratar de interpretar estos fenómenos de una manera general en los pacientes con SIRA que fallecieron, el hecho de encontrar una mayor concentración de citocinas tanto pro-inflamatorias, como anti-inflamatorias en el LBA y en suero al mismo tiempo, puede significar que se estuvo presentando un Síndrome de Respuesta Antagonista Mixta^{23, 24}, lo que probablemente ocasionó la muerte.

CONCLUSIONES

1. Las concentraciones en LBA de las citocinas pro-inflamatorias (TNF- α , IFN- γ e IL-12p70) de los pacientes con SIRA fueron mayores que las concentraciones de los pacientes con LPA.
2. Las concentraciones en el LBA de las citocinas anti-inflamatorias (IL-4 e IL-10) fueron mayores, pero sólo alrededor del momento del desarrollo del SIRA.
3. Las concentraciones séricas de las citocinas pro y anti-inflamatorias no mostraron diferencias entre los pacientes con LPA y SIRA.
4. Entre los pacientes que desarrollaron SIRA y que se recuperaron, las concentraciones de las citocinas pro-inflamatorias en el LBA fueron mayores que las concentraciones de los pacientes con SIRA que fallecieron. A nivel sérico esta observación fue inversa: los que se fallecieron tuvieron las concentraciones mayores.
- 5.- Las concentraciones séricas de las citocinas anti-inflamatorias fueron mayores entre los pacientes con SIRA que se recuperaron en comparación con las concentraciones de los que fallecieron.

BIBLIOGRAFÍA

1. Nichols D, Mc Closkey J. Acute Respiratory Distress Syndrome. *Pediatric Intensive Care*. Williams and Wilkins Ed. 1995:197-232.
2. Ashbaugh DG, Bigelow DB, Petty TL, Levine BE. Acute Respiratory Distress in Adults. *Lancet* 1967; 2: 319-23.
3. Petty TL, Ashbaugh DG. The adult respiratory distress syndrome: clinical features, factors influencing prognosis and principles of management. *Chest* 1971; 60: 233-9.
4. Murray JF, Matthay MA, Luce JM, Flick MR. An expanded definition of the Adult Respiratory Distress Syndrome. *Am Rev Respir Dis* 1988; 138: 720-3.
5. Fulkerson WJ, Macintyre N, Stamler J, Crapo JD. Pathogenesis and treatment of the adult respiratory distress syndrome. *Arch Intern Med* 1996; 156: 23-38.
6. Bernard GR, Artigas A, Brigham KL, Carlet J, Falke K, Hudson L, et al. The American-European consensus conference on ARDS: Definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149: 818-824.
7. Artigas A, Bernard G., Carlet J, Dreyfuss D, Gattinoni L. Acute Respiratory Dystress Syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*, 1998, 157: 1332-47.
8. Doyle RL, Szaflarski N, Modin GW, Wiener-Kronish JP, Matthay MA. Identification of patients with acute lung injury: predictors of mortality. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152: 1818-24.
9. Matthay MA. Conference summary: Acute Lung Injury. *Chest* 1999; 116 (Suppl):119s-126s.
10. Abraham E, Matthay MA, Dinarello CA. Consensus conference definitions for sepsis, septic shock, acute lung injury and acute respiratory distress syndrome: time for a reevaluation. *Crit Care Med* 2000; 28: 232-5.
11. Durand P, Le Pommelet C, Orbach D, Devictor D, Current aspects of acute respiratory distress syndrome in children. *Arch Pediatr* 1997; 4: 61-77.
12. Raymond KL, William ET. Adult respiratory distress syndrome in a pediatric intensive care unit: predisposing conditions, clinical course and outcome. *Pediatrics* 1981, 67: 790-5.
13. Timmons OD, Dean JM, Vernon DD. Mortality rates and prognostic variables in children with Adult Respiratory Distress Syndrome. *J Pediatr* 1993; 123:35-45.

14. Hudson LD, Steinberg KP. Epidemiology of Acute Lung Injury and ARDS. *Chest* 1999; 116:74-82.
15. Petty TL. 41st Aspen Lung Conference overview. *Chest* 1999; 16:1-2.
16. Wyllcoll DL, Evans TW. Acute Respiratory Distress Syndrome. *Lancet* 1999; 7: 501-7.
17. Jardin FR, Fellani JL, Beauchet AL, Viellard-Baron AJ, Lubieres YK, Page BT. Improved prognosis of Acute Respiratory Distress Syndrome 15 year on. *Intensive Care Med* 1999; 25: 936-41.
18. Artigas A, Bernard GR, Carlet J, Dreyfuss D, Gattinoni L, et al. The American-European Consensus Conference on ARDS, Part 2. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157:1332-47.
19. Headley AS, Tolley E, Meduri GU: Infections and the inflammatory response in acute respiratory distress syndrome. *Chest* 1997; 111:1306-21.
20. Donnelly SC, Haslett C, Dransfield Y. Role of selectins in development of adult respiratory distress syndrome. *Lancet* 1994; 344:215-9.
21. Pugin J, Verghese G, Widmer MC, Matthay M. The alveolar space is the site of intense inflammatory and profibrotic reactions in the early phase of acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med* 1999; 27:304-12.
22. Brigham J, Meyrick B. State of art: Endotoxina and lung injury. *J Respir Dis* 1986; 133: 913-27.
23. Bone RC. Sir Isaac Newton, sepsis, SIRS, and CARS. *Crit Care Med* 1996; 24:1125-8.
24. Bone RC, Grodzin CJ, Balk RA: Sepsis: A new hypothesis for pathogenesis of the disease process. *Chest* 1997; 112:235-43.
25. Bone RC. Immunologic Dissonance: A continuing evolution in our understanding of the Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) and Multiple Organ Dysfunction Syndrome (MODS). *Ann Intern Med* 1996; 125:680-7.
26. Schwartz MD, Moore EE, Moore FA, et al: Nuclear factor-B is activated in alveolar macrophages from patients with acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med* 1996; 24: 1285-92.
27. Parsons PE, Moore FA, Inklé DN. Studies on the Tumor Necrosis Factor in Adult Respiratory Distress Syndrome. *Am Rev Respir Dis* 1992; 146: 694-700.

28. Miller EJ, Cohen AB, Magno S. Elevated levels of NAP-1: Interleukin-8 are present in the airspaces of patients with the adult respiratory distress syndrome and are associated with increased mortality. *Am Rev Respir Dis* 1992; 146:427-32.
29. Gunther K, Baughman RP, Pattishall E, et al. Evaluation of intrapulmonary interleukin-8 in patients with sepsis-induced adult respiratory distress syndrome. *Am J Resp Crit Med* 1994; 197:534-8.
30. Roumen RMH, Heridriks T, Van der Ven-Jongekrijg. Cytokines patterns in patients after major vascular surgery, hemorrhagic shock and severe blunt trauma: relation with subsequent adult respiratory distress syndrome and multiple organ failure. *Ann Surg* 1993; 218:769-76.
31. Wiedermann FJ, Mayr AJ, Hobisch-Hagen P, Fuchs D. Association of endogenous G-CSF with Anti-Inflammatory Mediators in Patients with Acute Respiratory Distress Syndrome. *J Interferon Cytokine Res* 2003; 23:729-36.
32. Wiedermann FJ, Mayr AJ, Kaneider NC, Fuchs D. Alveolar Granulocyte Colony-Factor and alfa-chemokines in relation to serum levels, pulmonary neutrophilia, and severity of lung injury in ARDS. *Chest* 2004;125: 213-9
33. Chollet- Martin S, Montravers P, Gibert. High levels of interleukin-8 in the blood and alveolar spaces of patients with pneumonia and adult respiratory distress syndrome. *Infection and Immunity* 1993; 61:4553-9.
34. Donnelly SC, Strieter RM, Kunkel SL. Interleukin-8 development of adult respiratory distress syndrome in at-risk patient groups. *Lancet* 1993; 341: 643-7.
35. Miller EJ, Cohen AB, Matthay MA. Increased interleukin-8 concentrations in the pulmonary edema fluid of patients with acute respiratory distress syndrome from sepsis. *Crit Care Med* 1996; 24: 1448-54.
36. Xiaojing Ma. TNF and IL-12: a balancing act in macrophage functioning. *Microbes and infection* 2001; 3: 121-9.
37. Trinchieri G. Interleukin-12 and its role in the generation of Th1 cells. *Immunol Today* 1993; 14: 335-8.
38. Parsons PE, Moss M, Vannice JL, Moore EE, Repine JE. Circulating IL-1ra and IL-10 levels are increased but do not predict the development of acute respiratory distress syndrome in at-risk patients. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155: 1469-73.

39. Li Q, Qian G, Zhang Q, Gong J, Tang Z, Gao Z. Changes of plasma interleukin-4, interleukin-10 and interleukin-13 in patients with acute respiratory distress syndrome. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi* 2002; 25: 661-4.
40. Mulligan MS, Warner RL, Foreback JL, Shanley TP, Ward PA. Protective effects of IL-4, IL-10, IL-12, and IL-13 in IgG immune complex-induced lung injury: role of endogenous IL-12. *J Immunol* 1997; 159: 3483-9.
41. Meduri GU, Headley S, Kohler G. Persistent elevation of inflammatory cytokines predicts a poor outcome in ARDS. *Chest* 1995; 107:1062-73.
42. Meduri GU, Kohler G, Headley S. Inflammatory cytokines in the BAL of patients with ARDS. *Chest* 1995; 108:1303-14.
43. Dobyns EL, Eells PL, Griebel JL, Abmaan SH. Elevated plasma endothelin-1 and cytokine levels in children with severe acute respiratory distress syndrome. *J Pediatr* 1999; 135: 246-9.
44. Pollack MM, Ruttimann UE, Getson PR. Pediatric Risk of Mortality (PRISM) score. *Crit Care Med* 1988; 16: 1110-6.
45. Kotecha S. Bronchoalveolar lavage of newborn infants. *Pediatr Pulmonol* 1999; 18s:122-4.
46. Viscardi RM, Broderick K, Sun CJ, Yale-Loehr A, Taciak V. Disordered pathways of fibrin turnover in lung lavage of infants with distress syndrome. *Am Rev Respir Dis* 1992; 146: 51-3.
47. Cavaillon JM. Pathophysiological role of pro and anti-inflammatory cytokines in sepsis. *The diagnosis of sepsis, current prospectives*, Boston (USA): Kluwer Academic Publishers, 1998: 127-40.
48. Martin TR. Cytokines and the acute respiratory distress syndrome (ARDS): A question of balance. *Nature Medicine* 1997; 3: 272-3.
49. Ward PA. Role of complement, chemokines, and regulatory cytokines in acute lung injury. *Ann NY Acad Sci* 1996; 796: 104-12.
50. Donnelly SC, Haslett C, Reid PT, Grant IS. Regulatory role for macrophage migration inhibitory factor in acute respiratory distress syndrome. *Nature Medicine* 1997; 3: 320-4.
51. Park WY, Goodman RB, Steinberg KP, Ruzinski JT, Radella F, et al. Cytokine Balance in the Lungs of Patients with Acute Respiratory Distress Syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 1896-1903.

52. Osman MO, Jacobsen NO, Kristensen JU, et al. IT 9302, a synthetic interleukin-10 agonist, diminishes acute lung injury in rabbits with acute necrotizing pancreatitis. *Surgery* 1998; 124: 584-92.
53. Kox WJ, Bone RC, Krausch D, Doche WD, Wauer H. et al. Interferon Gamma-1b in the treatment of Compensatory Anti-inflammatory Response Syndrome. *Arch Inter Med* 1997; 157: 389-92.
54. Hayward R, Nossuli TO, Scalia R, et al. Cardioprotective effect of interleukin-10 in murine myocardial ischemia-reperfusion. *Eur J Pharmacol* 1997; 334: 157-63.
55. Brigl A, Bry L, Kent SC, Gumperz JE, Brenner MB. Mechanism of CD1d-restricted natural killer T cell activation during microbial infection. *Nature Immunology* 2003; 4: 1230-7.
56. Taniguchi M, Seino K, Nakayama T. The NKT cells system: bridging innate and acquired immunity. *Nature Immunology* 2003; 4: 1164-6.

Cuadro 1. Características de los niños en el momento del diagnóstico de lesión pulmonar aguda (LPA).

Característica	N	%
Edad (meses)	23 (1-188)*	
Edad (por grupo etario)		
Lactantes	16	42.1
Preescolares	9	23.7
Escolares	8	21.0
Adolescentes	5	13.2
Sexo		
Masculino	20	52.6
Femenino	18	47.4
Enfermedad subyacente		
Ninguna	16	42.1
Cáncer	8	21.0
Cardiopatía congénita/ flujo pulmonar normal o bajo	4	10.5
Malformación congénita	3	7.9
Diabetes mellitus	2	5.3
Insuficiencia renal	2	5.3
Pancreatitis crónica	2	5.3
Hepatitis viral crónica	1	2.6
Motivo de Ingreso a la UTIP**		
Compromiso respiratorio	20	52.6
Cuidados posquirúrgicos	6	15.8
Deterioro hemodinámico	8	21.1
Deterioro neurológico	4	10.5
Causa de LPA		
Pulmonar	22	57.9
Extra-pulmonar	16	42.1
Tiempo de estancia en UTIP previo a LPA	6 (1 – 14)*	
Calificación de PRISM al momento de LPA	32 (22 – 44)*	
Días de asistencia a la ventilación a partir de LPA	7 (3-19)	
Días de estancia en UTIP a partir de LPA	11 (9 – 26)*	

* Mediana (valor mínimo y máximo). ** Unidad de Terapia Intensiva Pediátrica

Cuadro 2. Evolución de los valores (pg/mL) de las concentraciones en suero de las citocinas evaluadas, por grupo.

	Inicio	36 h	48 h (Día 2)	60 h	72 h (Día 3)	84 h	96 h (Día 4)	120 h (Día 5)
TNF								
LPA	455 (299 – 533)	436 (342 – 657)	437 (289 – 500)	423 (357 – 490)	471 (375 – 494)	524 (355 – 695)	509 (461 – 664)	509 (455 – 562)
SIRA		453 (225 – 542)	419 (329 – 524)	433 (457 – 591)	538 (310 – 708)	444 (192 – 681)	421 (172 – 587)	442 (422 – 555)
SIRA vivos			373 (393 – 489)	561 (279 – 799)	542 (430 – 616)	504 (444 – 858)	421 (142 – 584)	455
SIRA muertos			473 (330 – 752)	393 (217 – 477)	419 (217 – 608)	192 (113 – 371)	422 (178 – 581)	428 (420 – 587)
IFN								
LPA	42 (22 – 61)	24 (9 – 37)	60 (28 – 112)	16 (7 – 83)	23 (12 – 70)	30 (7 – 52)	46 (39 – 52)	32 (11 – 55)
SIRA		69 (24 -129) *	54 (15 – 140)	69 (21 – 113)	67 (22 – 105)	68 (19 – 111)	78 (25 – 126)	27 (11 – 180)
SIRA vivos			41 (6 – 65)	39 (14 – 59)	35 (19 – 65)	35 (22 – 78)	65 (17 – 97)	8
SIRA muertos			88 (29 – 87)	76 (71 – 125)	97 (39 – 129)	106 (68 – 143)	80 (32 – 123)	29 (23 – 62)
IL- 12								
LPA	150 (86 – 259)	91 (60 – 171)	99 (66 – 141) *	111 (65 – 201)	133 (89 – 339)	95 (68 – 122)	104 (65 – 362)	399 (223 – 576)
SIRA		137 (112 – 287)*	180 (138 – 318)	147 (96 – 223)	205 (120 – 335)	121 (79 – 217)	235 (117 – 373)	277 (208 – 544)
SIRA vivos			139 (46 – 230)	176 (80 – 259)	139 (89 – 244)	81 (77 – 165)	124 (102 – 264)	195
SIRA muertos			253 (161 – 386)	134 (126 – 160)	307 (176 – 426)	195 (121 – 269)	360 (206 – 511)	308 (247 – 423)
IL- 4								
LPA	47 (43 – 59)	46 (42 – 52)	48 (45 – 58)	47 (39 – 66)	48 (45 – 61)	47 (46 – 47)	41 (20 – 51)	48 (43 – 52)
SIRA		47 (42 – 60)	49 (41 – 68)	46 (43 – 62)	45 (41 – 57)	43 (39 – 103)	45 (43 – 62)	47(39 – 60)
SIRA vivos			52 (45 – 67)	47 (44 – 62)	55 (45 – 68)	46 (42 – 59)	52 (32 – 64)	55
SIRA muertos			45 (37 – 69)	43 (35 – 45)	42 (32 – 45)	39 (37 – 42)	44 (43 – 58)	39 (38 – 52)
IL- 10								
LPA	289 (198 – 355)	262 (167 – 337)	263 (155 – 322)	285 (255 – 425)	183 (131 – 464)	255 (252 – 258)	140 (117 – 240)	136 (112 – 161)
SIRA		514 (213 – 675)	354 (222 – 422)	362 (259 – 711)	303 (234 – 620)	293 (248 – 545)	289 (221 – 458)	258 (136 – 470)
SIRA vivos			418 (204 – 538)	394 (267 – 561)	371 (268 – 592)	331 (245 – 501)	288 (230 – 360)	167
SIRA muertos			316 (244 – 368)	293 (250 – 405)	250 (196 – 480)	365 (246 – 465)	295 (183 – 358)	349 (126 – 411)

* p < 0.05 entre el grupo de LPA vs. SIRA

Cuadro 3. Evolución de los valores (pg/mL) de las concentraciones en LBA de las citocinas evaluadas, por grupo.

	Inicio	36 h	48 h (Día 2)	60 h	72 h (Día 3)	84 h	96 h (Día 4)	120 h (Día 5)
TNF								
LPA	986 (852-1251)	742 (587 – 547)	682 (571 – 906)	644 (530 – 735)	615 (540 – 802)	659 (559-759)	637(540 –802)	635 (489 – 781)
SIRA		1212 (917-328)*	1237 (988-1402)*	1230(1107-1662)*	1356(989– 1720)*	1835(1219-1985)*	1361(1206-1531)*	1258(1005-1673)*
SIRA vivos			1293 (995– 1475)	1218 (1123–1587)	1601(1417–2018)	1835(1276-2675)	1636(1323–2295)	1789
SIRA muertos			1118 (941– 1391)	1242 (971 -1912)	993 (960 – 1524)	1569(1162-1975)	1208 (941– 1877)	1194 (943–1323)
IFN								
LPA	83 (61 – 149)	54 (43 – 96)	50 (35 – 68)	54 (48 – 79)	56 (46 – 73)	54 (38 – 66)	52 (42 – 59)	50 (48 – 52)
SIRA		76 (44 – 109)	72 (54 – 118)	100 (90 – 123)*	105 (79 – 139) *	111 (101 – 140)*	125 (108 – 147) *	142 (118 – 170) *
SIRA vivos			115 (50 – 150)	103 (73 -128)	114 (80 – 150)	111 (90 – 139)	138 (91 – 175)	178
SIRA muertos			57 (52 – 86)	98 (88 -127)	92 (79 – 176)	127 (111 – 142)	120 (107 – 130)	140 (110 – 144)
IL- 12								
LPA	203 (173 – 249)	167 (123 – 187)	192 (134 – 236)	138 (97 – 172)	164 (101 – 199)	73 (47 – 98)	229 (159 – 298)	259 (190 – 327)
SIRA		279 (197 – 344)*	272 (245 – 383) *	242 (177 – 307)*	359 (225 – 390) *	272 (222 – 346)	327 (276 – 374)	335 (214 – 357)
SIRA vivos			327 (218 – 412)	257 (185 – 338)	303 (181 – 422)	274 (232 – 351)	316 (276 – 384)	319
SIRA muertos			217 (187 – 327)	203 (119 – 281)	364 (185 – 390)	277 (211 – 342)	327 (265 – 372)	350 (179 – 359)
IL- 4								
LPA	41 (12 – 83)	33 (15 – 68)	26 (13 – 44)	13 (10 – 48)	30 (27 – 65)	44 (23 – 64)	74 (57 – 87)	40 (30 – 51)
SIRA		63 (33 – 151)	70 (18 – 148)	105 (40 – 184)*	71 (34 – 158)	219 (55 – 265)	98 (24 – 159)	43 (15 – 70)
SIRA vivos			70 (44 – 102)	72 (26 – 140)	65 (45 – 104)	91 (69 – 234)	98 (31 – 152)	36
SIRA muertos			74 (22 – 147)	197 (134 – 215)	156 (87 – 211)	257 (219 – 295)	98 (47 – 161)	48 (37 – 77)
IL- 10								
LPA	151 (89 – 339)	200 (124 – 330)	140 (83 – 374)	201 (101 – 393)	197 (138 – 375)	124 (49 – 199)	134 (75- 270)	407 (276 – 537)
SIRA		333 (261 – 378)	398 (335 – 439) *	407 (204 – 455)	414 (213 – 495)	391 (353 – 448)	350 (215 – 417) *	478 (164 – 514)
SIRA vivos			352 (277 – 389)	396 (268 – 504)	449 (236 – 500)	389 (316 – 391)	278 (197 – 401)	87
SIRA muertos			437 (399 – 455)	432 (269 – 463)	411 (213 – 484)	448 (425 – 471)	382 (256 – 498)	558 (396 – 633)

* p < 0.05 entre el grupo de LPA vs. SIRA

Fig. 1 Evolución de los niños con Lesión Pulmonar Aguda, de acuerdo con el desenlace.

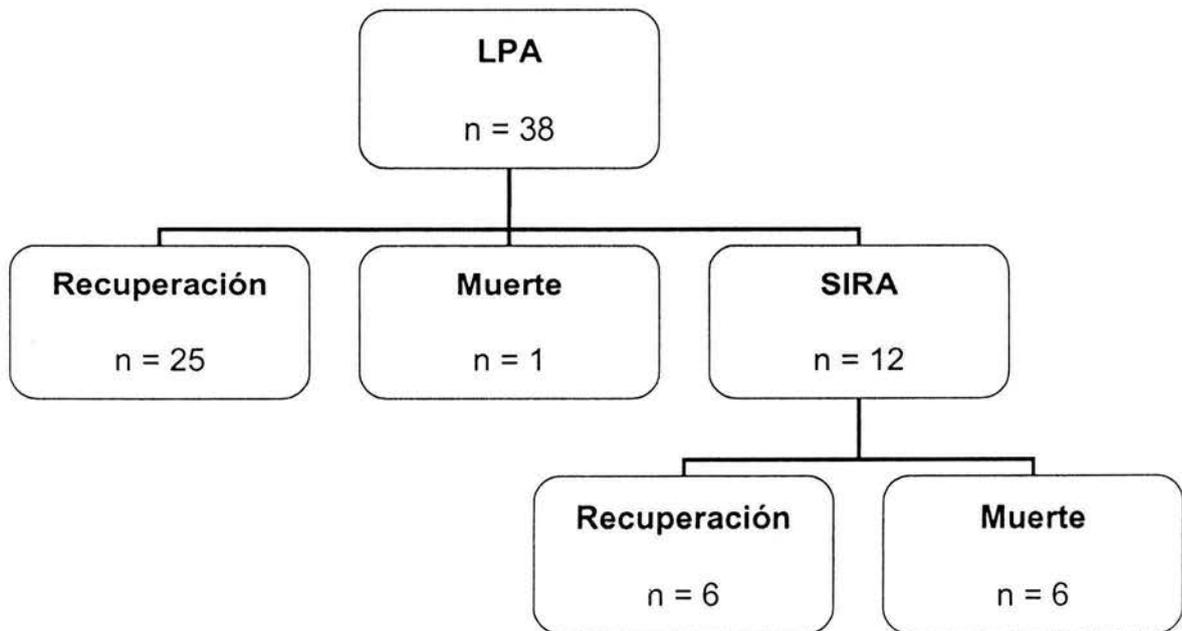


Fig. 2 Evolución de la cohorte de pacientes estudiados en el tiempo

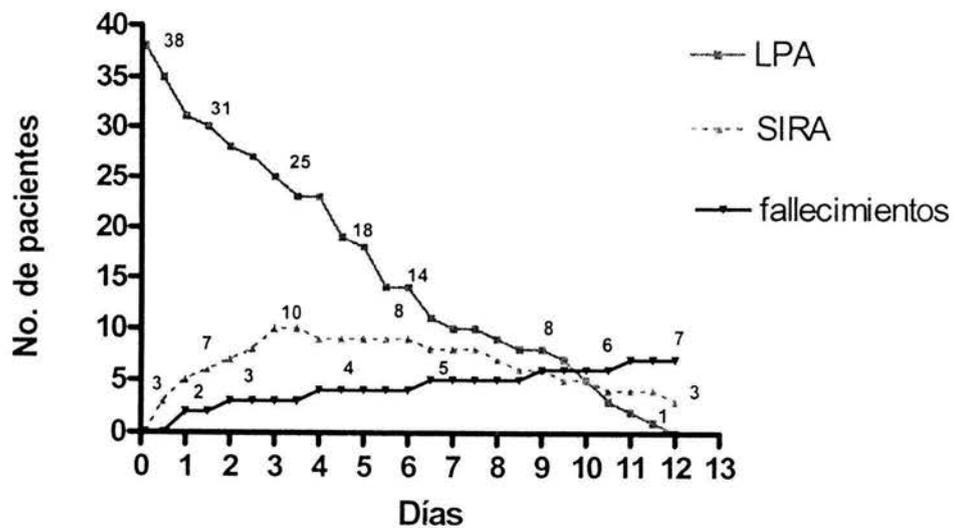


Fig. 3 Puntuación de PRISM en los diferentes grupos de pacientes durante su vigilancia

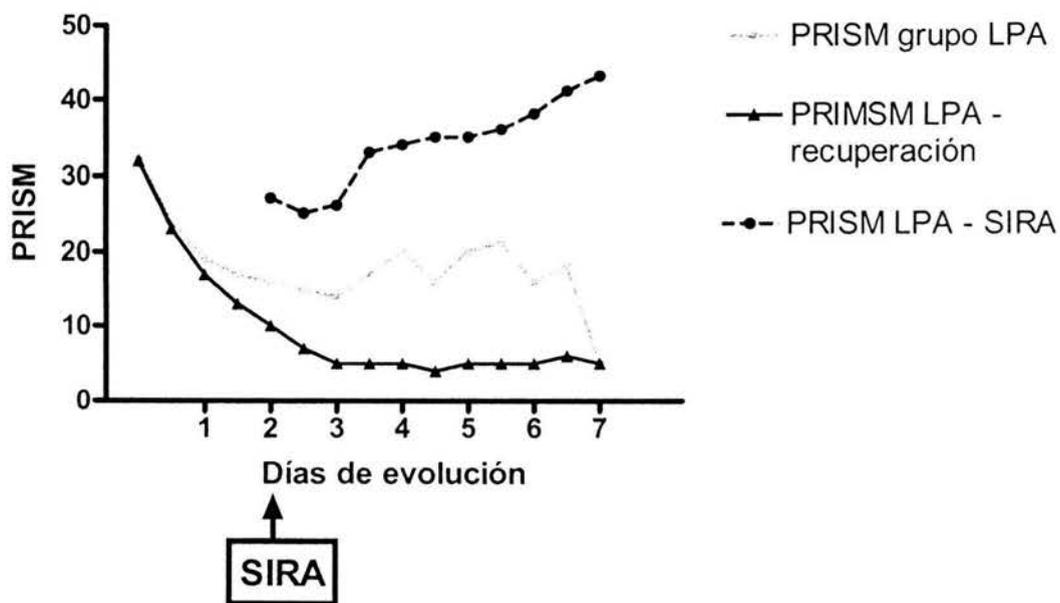


Fig. 4 Evolución de la concentración sérica de TNFalfa a partir de LPA y el desarrollo de SIRA

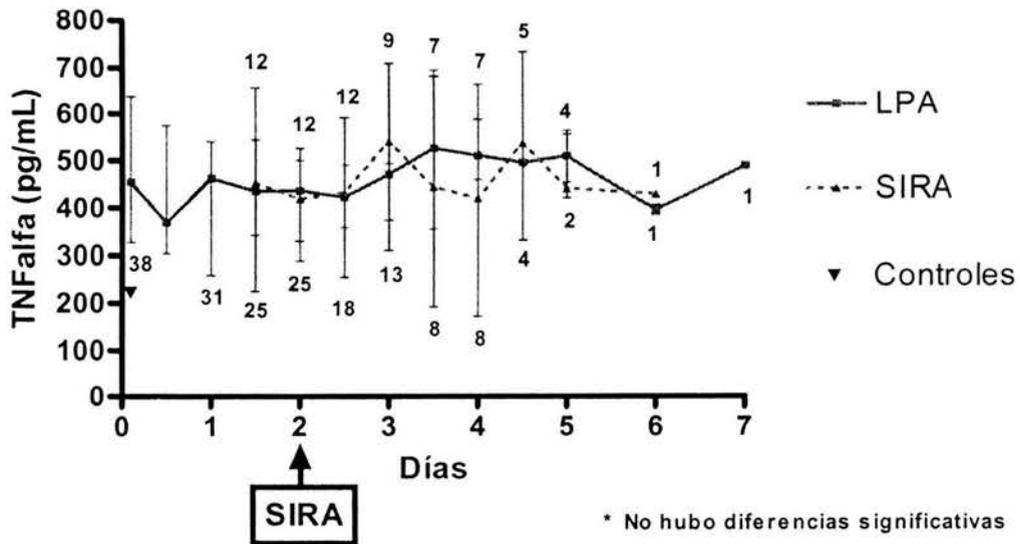
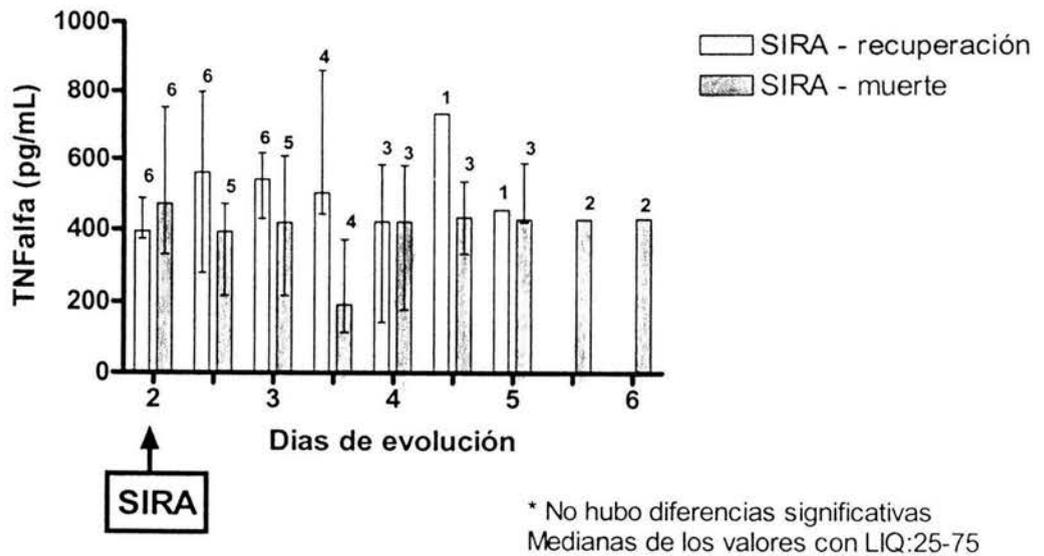


Fig. 5 Evolución de la concentración sérica de TNF-alfa a partir del desarrollo de SIRA entre los pacientes que se recuperaron y murieron



- Notas:** 1) En la gráfica superior, los números dentro de la gráfica se refieren al número de pacientes. Los de la parte superior corresponden al grupo de SIRA, y los de la parte inferior al de LPA.
 2) En la gráfica inferior, los números por arriba de barras corresponden al número de pacientes por grupo.
 3) En las siguientes páginas no se incluyeron los números pero deben considerarse igual a estas dos gráficas.

Fig. 6 Evolución de la concentración de TNFalfa en LBA a partir de LPA y el desarrollo de SIRA

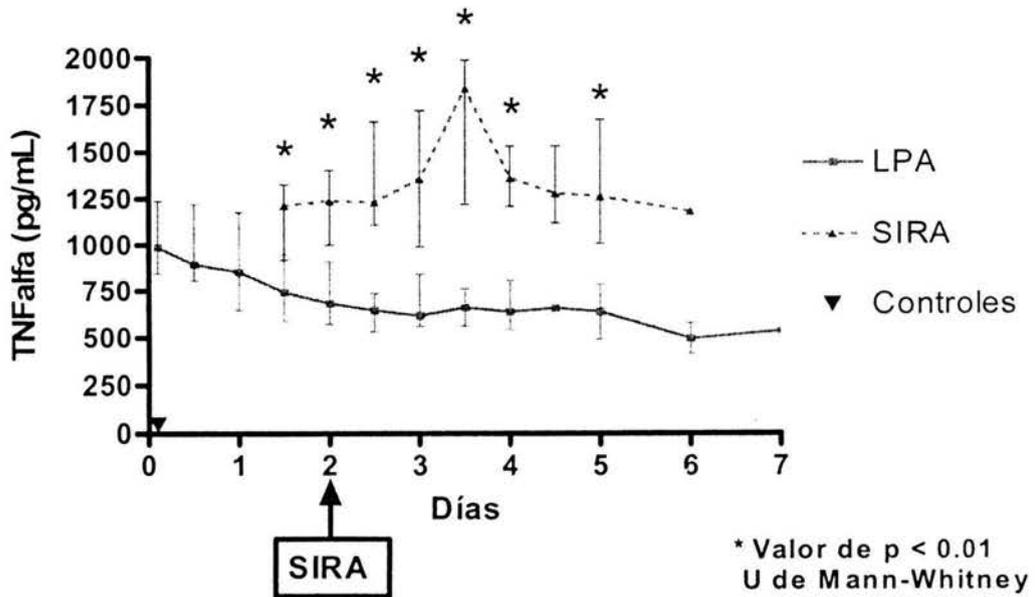


Fig. 7 Evolución de la concentración de TNF-alfa en LBA a partir del desarrollo de SIRA entre los pacientes que se recuperaron y murieron

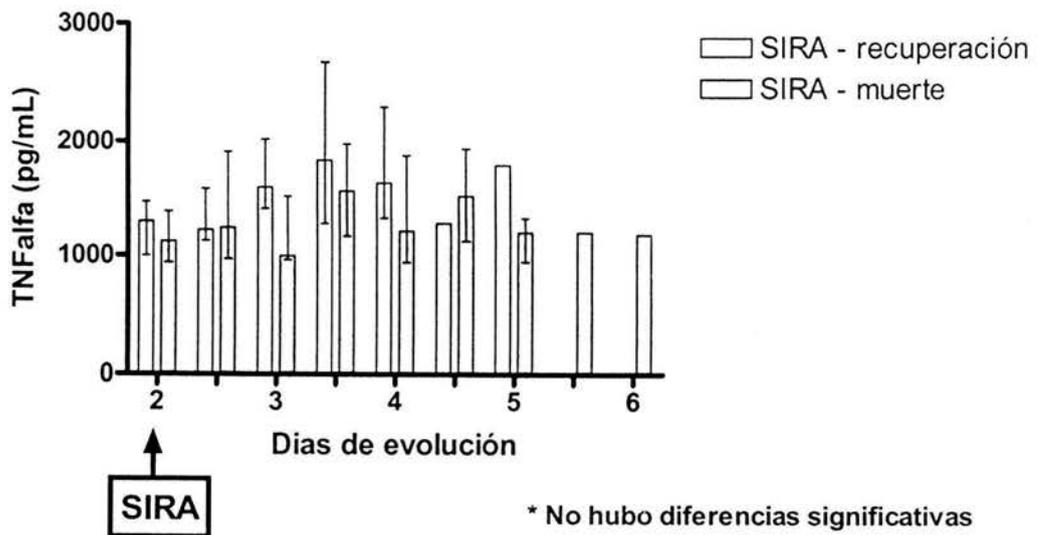


Fig. 8 Evolución de la concentración sérica de IFNgamma a partir de LPA y el desarrollo de SIRA

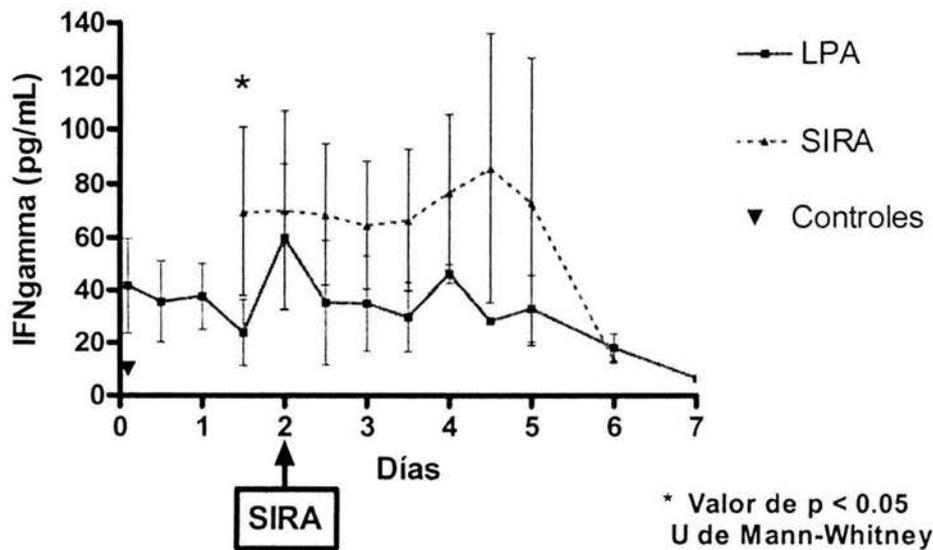


Fig. 9 Evolución de la concentración sérica de IFN-gamma a partir del desarrollo de SIRA entre los pacientes que se recuperaron y murieron

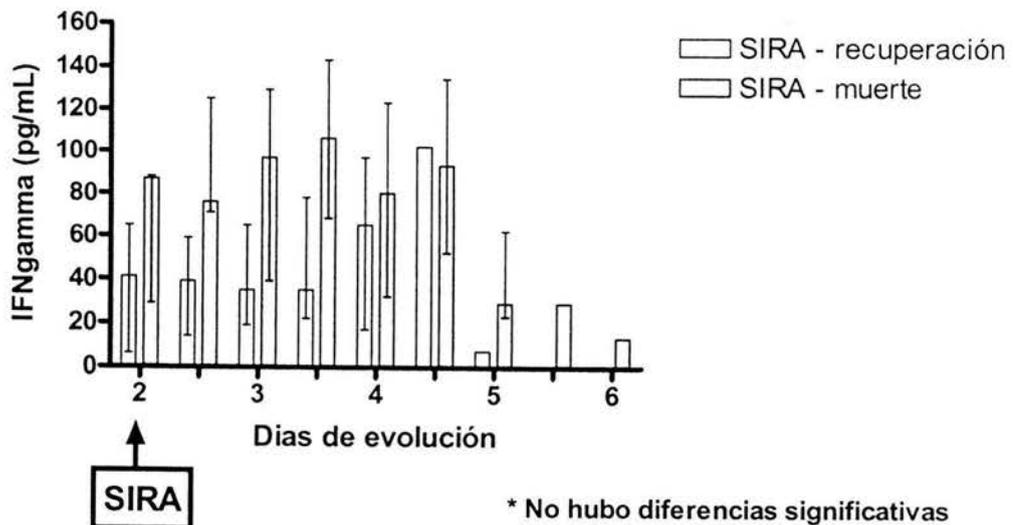


Fig. 10 Evolución de la concentración de IFNgamma en LBA a partir de LPA y el desarrollo de SIRA

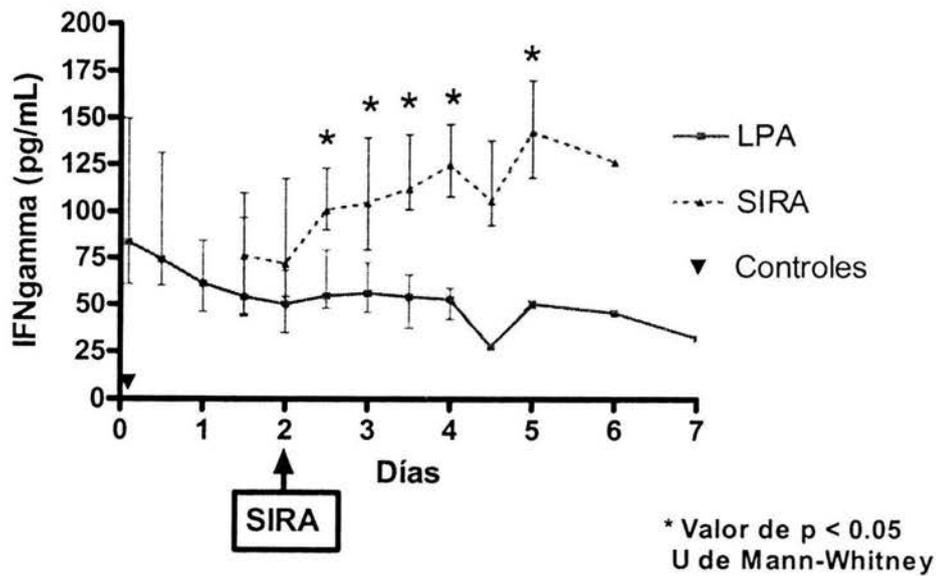


Fig. 11 Evolución de la concentración de IFN-gamma en LBA a partir del desarrollo de SIRA entre los pacientes que se recuperaron y murieron

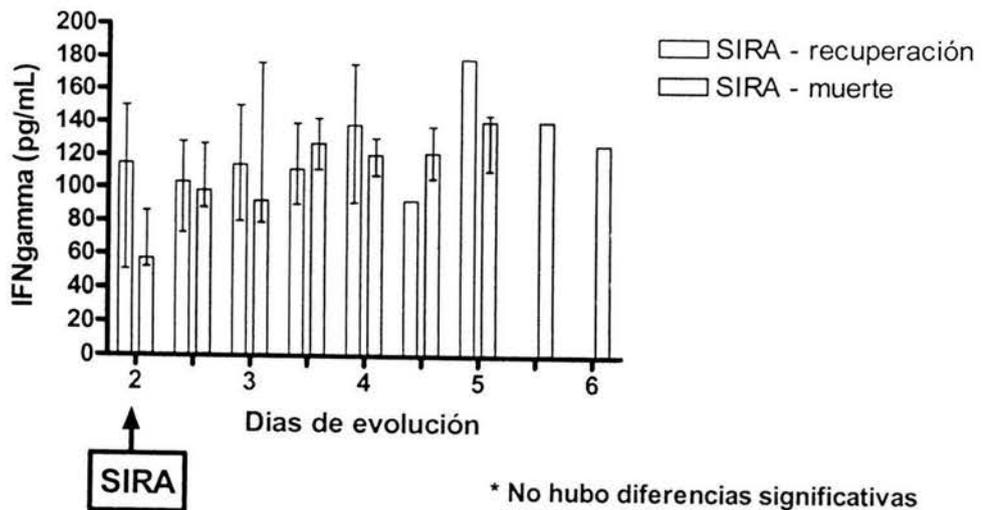


Fig. 12 Evolución de la concentración sérica de IL-12p70 a partir de LPA y el desarrollo de SIRA

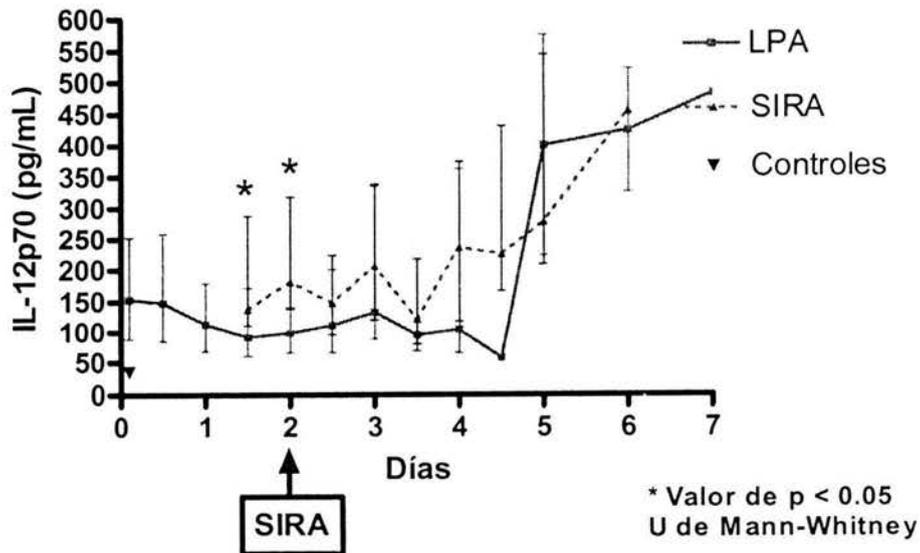


Fig. 13 Evolución de la concentración sérica de IL-12p70 a partir del desarrollo de SIRA entre los pacientes que se recuperaron y murieron

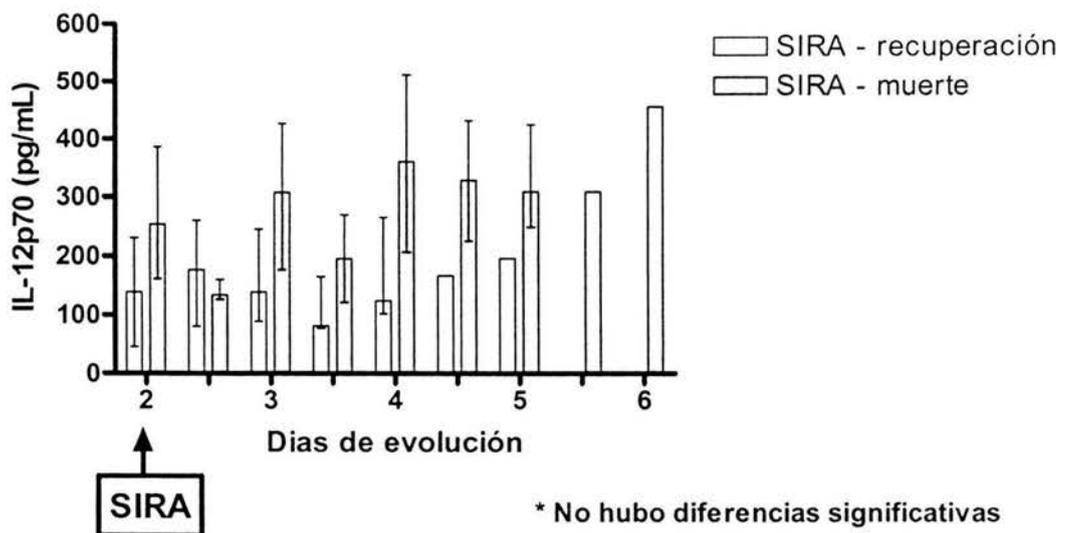


Fig. 14 Evolución de la concentración de IL-12p70 en LBA a partir de LPA y el desarrollo de SIRA

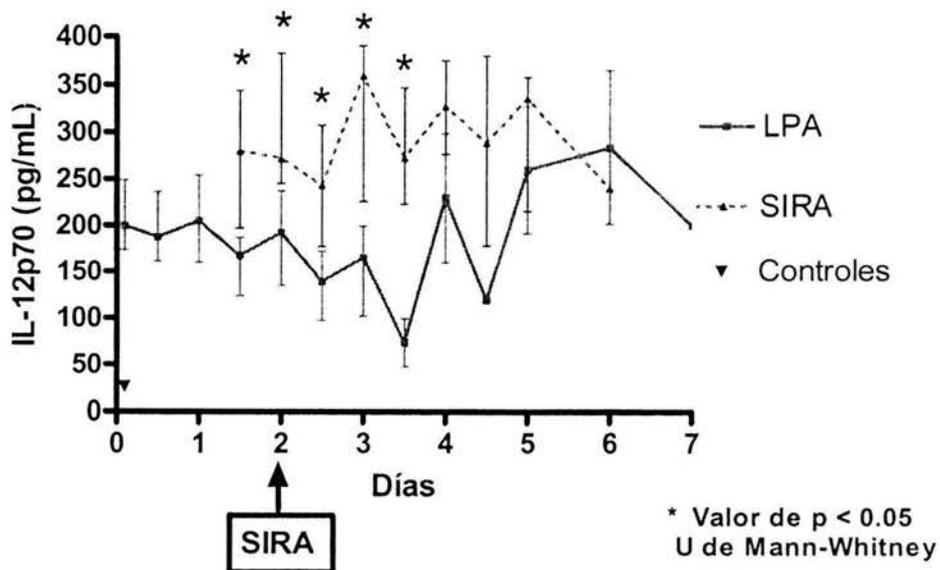


Fig. 15 Evolución de la concentración de IL-12p70 en LBA a partir del desarrollo de SIRA entre los pacientes que se recuperaron y murieron

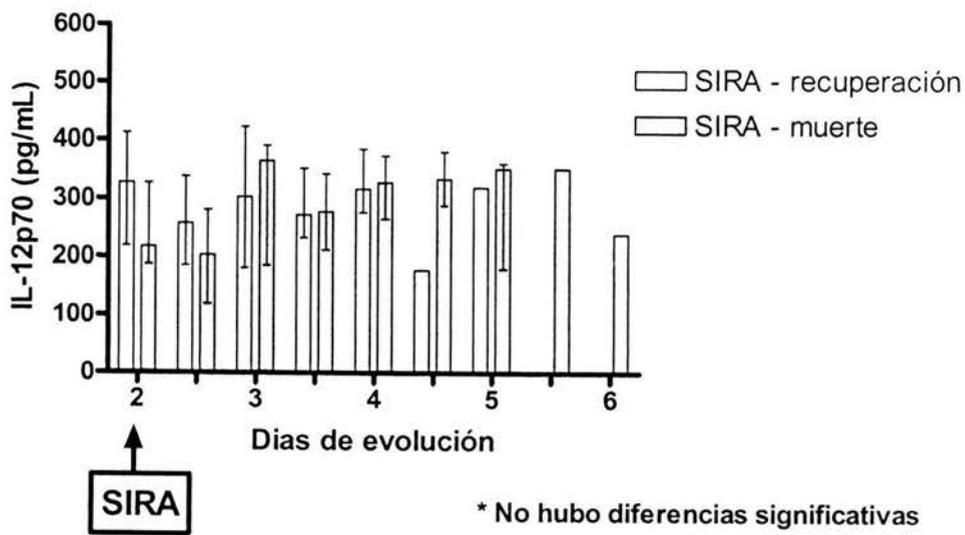


Fig. 16 Evolución de la concentración sérica de IL-4 a partir de LPA y el desarrollo de SIRA

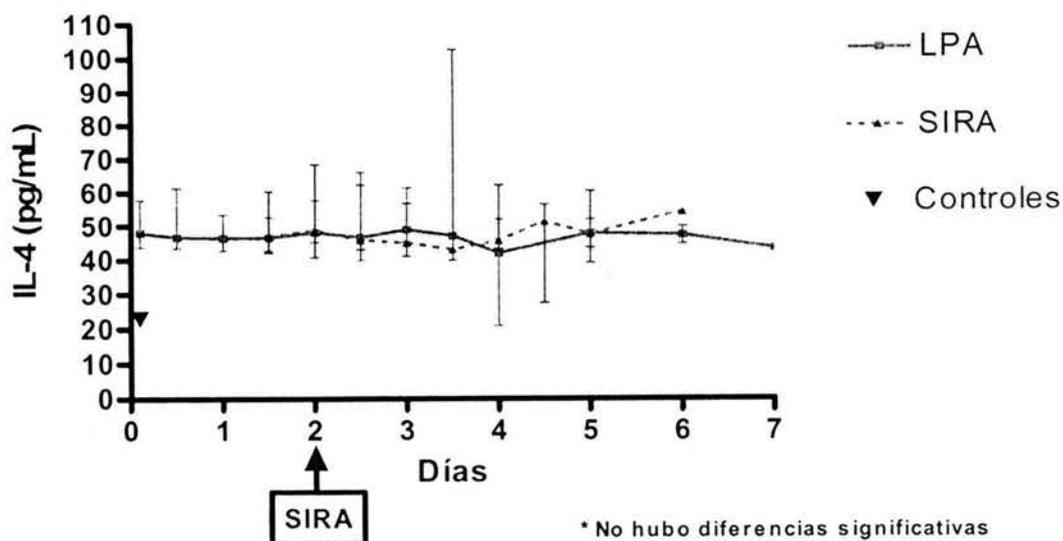


Fig. 17 Evolución de la concentración sérica de IL-4 a partir del desarrollo de SIRA entre los pacientes que se recuperaron y murieron

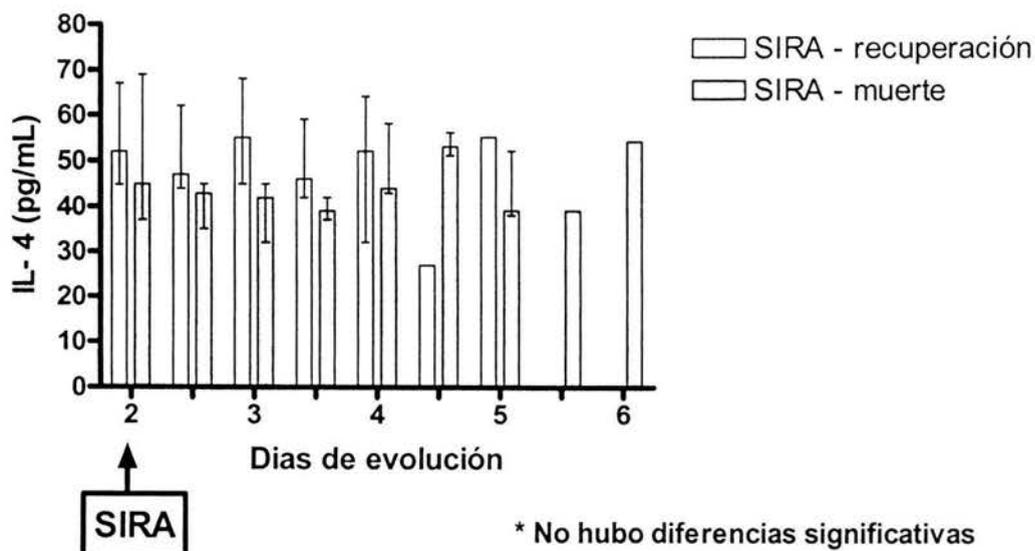


Fig. 18 Evolución de la concentración de IL-4 en LBA a partir de LPA y el desarrollo de SIRA

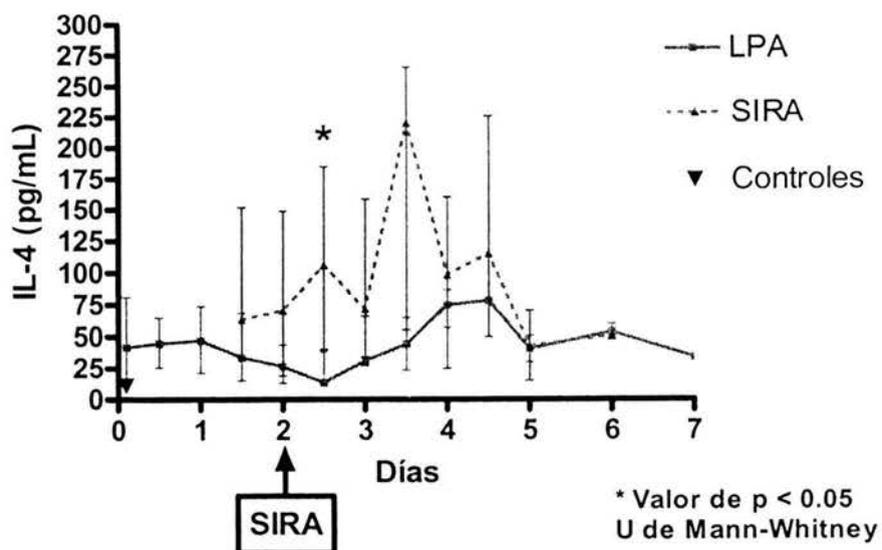


Fig. 19 Evolución de la concentración de IL-4 en LBA a partir del desarrollo de SIRA entre los pacientes que se recuperaron y murieron

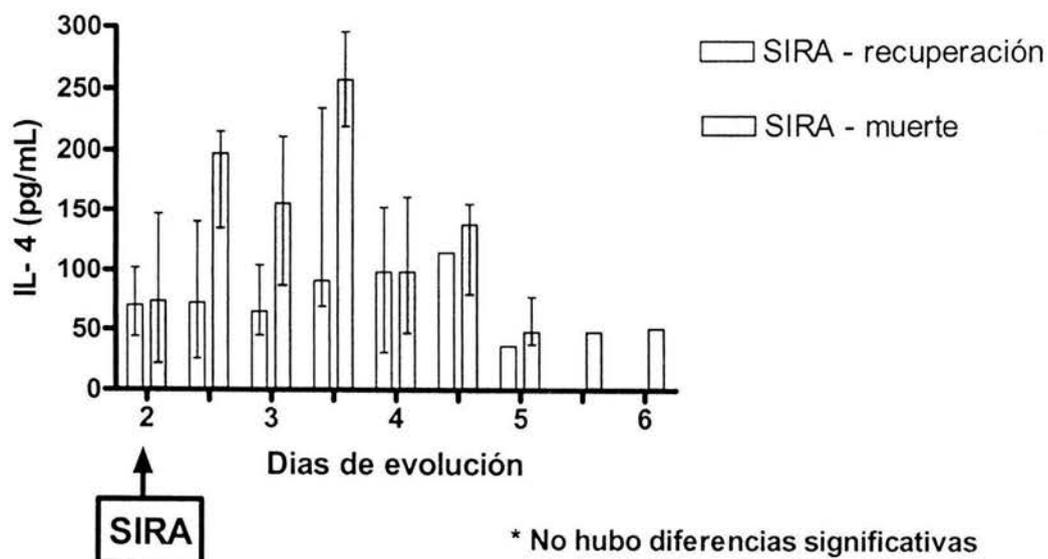


Fig. 20 Evolución de la concentración sérica de IL-10 a partir de LPA y el desarrollo de SIRA

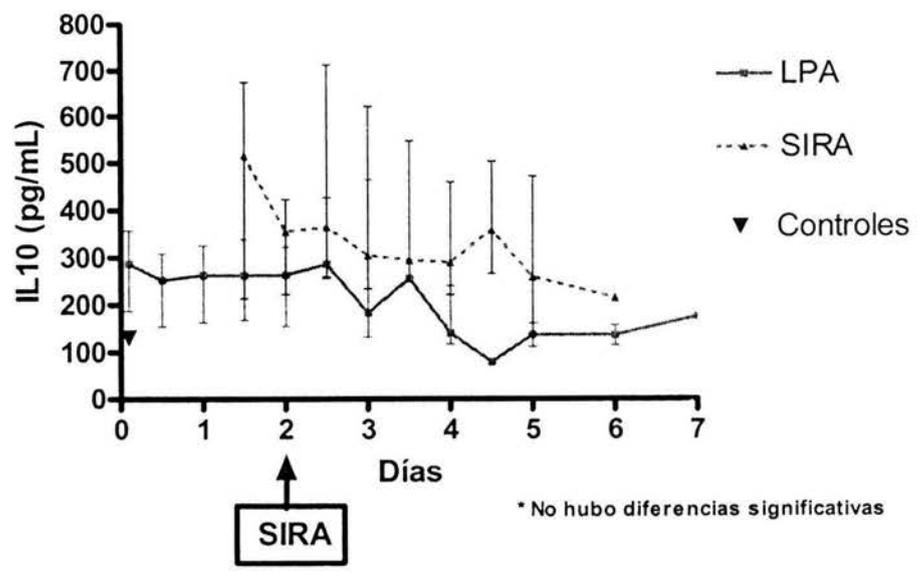


Fig. 21 Evolución de la concentración sérica de IL-10 a partir del desarrollo de SIRA entre los pacientes que se recuperaron y murieron

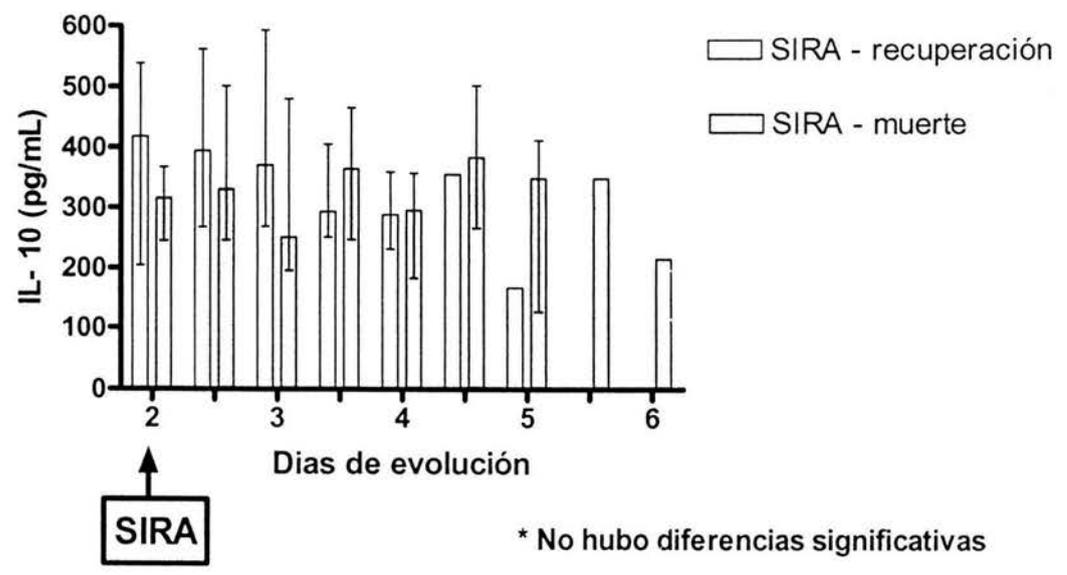


Fig. 22 Evolución de la concentración de IL-10 en LBA a partir de LPA y el desarrollo de SIRA

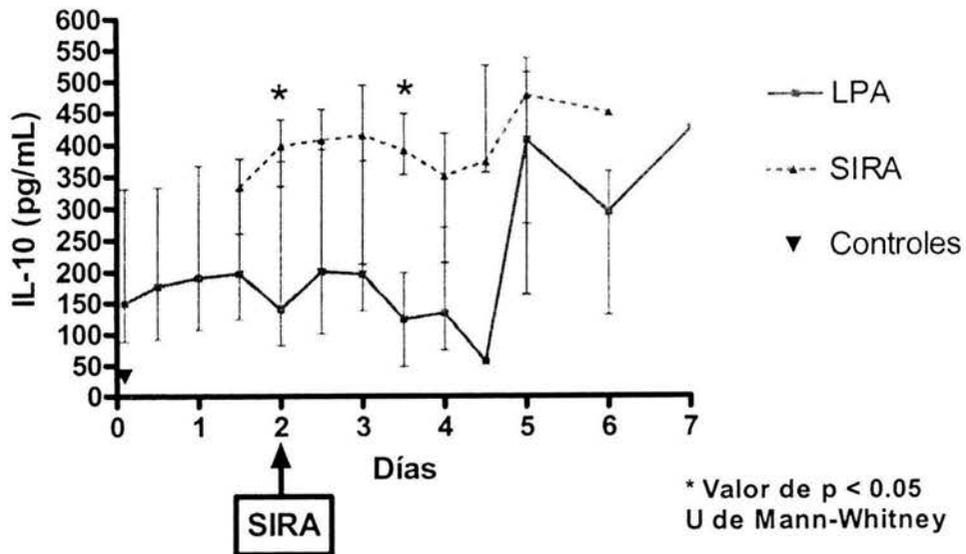


Fig. 23 Evolución de la concentración de IL-10 en LBA a partir del desarrollo de SIRA entre los pacientes que se recuperaron y murieron

