

11250



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE MEDICINA

Correlación entre el incremento de la resistencia de las vías aéreas y la producción de cisteinil-leucotrienos en niños con displasia broncopulmonar

T E S I S

EN OPCION AL TITULO DE

NEUMOLOGIA PEDIATRICA

Presenta

Dra. Nancy Guadalupe Ojeda Luna

Tutores

Dr. Guillermo Zúñiga Vázquez
Dr. Mario H. Vargas Becerra





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

**SE AUTORIZA EL PRESENTE TRABAJO COMO TESIS DE POSGRADO DE LA
DRA. NANCY GUADALUPE OJEDA LUNA**

Dra. Georgina López Fuentes
Jefe del Servicio de Enseñanza, Hospital de Pediatría,
Centro Médico Nacional SXXI, IMSS



Dr. Guillermo Zúñiga Vázquez
Jefe del Servicio de Neumología Pediátrica, Hospital de Pediatría,
Centro Médico Nacional SXXI, IMSS
Tutor de Tesis



Dr. Mario Humberto Vargas Becerra
Neumólogo, Investigador Titular A. Hospital de Pediatría,
Centro Médico Nacional SXXI, IMSS
Tutor de Tesis

Juan Antonio Giménez S.
JUAN ANTONIO GIMÉNEZ SCHERER



3:35 63 6



Dr. NANCY GUADALUPE OJEDA LUNA
Tesis 6901

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios:

Por darme unos padres maravillosos que me impulsaron a crecer como persona y profesional

Por darme una familia unida y motivante.

Por darme una madre amorosa y de apoyo incondicional.

Por permitirme conocer a mi esposo Tonath y tener a Sofia, una luz de esperanza y amor.

Por permitirme realizar neumología pediátrica y conocer a los médicos que forman el servicio, de quienes aprendí conocimiento, humildad, sabiduría, humor y cariño.

A todos los que hicieron posible la realización de este proyecto:

Dr. Guillermo Zúñiga Vázquez
M. en C. Mario Humberto Vargas Becerra
Dr. David Hugo Ramírez San Juan
Dra. Elizabeth Hernández Alvidrez
A Cristina y Hortensia, enfermeras de bronoscopías.

DEDICATORIA

A Sofia,

por su apoyo silencioso

su cariño

sus gracias

su enseñanza

por ser ella misma

y permitirme ser mamá

INDICE

RESUMEN.....	6
INTRODUCCION.....	7
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	9
JUSTIFICACION.....	10
HIPOTESIS.....	10
OBJETIVOS.....	11
MATERIAL Y METODOS.....	11
RESULTADOS.....	17
DISCUSION.....	19
CONCLUSION.....	22
ILUSTRACIONES.....	23
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	30
ANEXOS.....	35

RESUMEN

Antecedentes. La displasia broncopulmonar (DBP) es una entidad que ocurre principalmente en recién nacidos pretérmino que reciben ventilación mecánica y altas fracciones inspiradas de oxígeno para el tratamiento del síndrome de dificultad respiratoria neonatal. Se caracteriza por daño de la vía aérea, así como inflamación y fibrosis del parénquima pulmonar. Aunque se acompaña de complicaciones diversas a nivel cardiológico, neurológico y oftalmológico, uno de los motivos más frecuentes de hospitalización son las alteraciones respiratorias, en especial la hiperreactividad bronquial y el broncospasmo. **Objetivos.** Debido a que los cisteinil-leucotrienos (mediadores químicos ampliamente estudiados en el asma) son capaces de producir estas dos últimas anomalías, en el presente estudio se investigó si existe una correlación entre la producción de cisteinil-leucotrienos (medidos a través de LTE_4 en orina) y la resistencia de la vía aérea y la respuesta broncodilatadora al salbutamol. **Métodos.** Este estudio se llevó a cabo en el Departamento de Neumología del Hospital de Pediatría, CMN SXXI del IMSS, cuyo principal motivo de consulta de primera vez y subsecuente son pacientes con DBP. Se estudiaron niños mayores de 28 días de vida extrauterina, de cualquier sexo, con diagnóstico de DBP, incluyendo antecedentes de asistencia mecánica ventilatoria y/o oxígeno suplementario en el período neonatal, dependencia de oxígeno suplementario al día 28 de vida ó 36 semanas de edad gestacional corregida, así como cambios radiológicos característicos. Se excluyeron pacientes con traqueostomía, secuelas laringotraqueales, obstrucción nasal, así como aquellos con sospecha de infección, expuestos al humo de tabaco o quienes hayan recibido algún medicamento antileucotrieno en los últimos 14 días. El día del estudio se midió la resistencia de la vía aérea mediante el método de la interrupción (R_{int}) antes y después de administrar 2 disparos (200 μ g) de salbutamol mediante espaciador con mascarilla, y se tomó muestra de orina, donde se midió LTE_4 por inmunoensayo. **Resultados.** Se estudiaron 31 pacientes con DBP, 15 mujeres y 16 hombres, de entre 3 meses y 9 años de edad. Los análisis de regresión y correlación mostraron que no existía asociación entre LTE_4 y R_{int} ($r=0.12$, $p=0.52$) ni con el porcentaje de broncodilatación ($r=-0.13$, $p=0.50$). Esta ausencia de correlación entre LTE_4 y R_{int} persistió al dividir la población de pacientes de acuerdo a otras variables como sexo, atopia, uso de esteroides y presencia de ERGE, y también al realizar análisis de regresión lineal múltiple. **Conclusiones.** No existe una correlación entre los niveles urinarios de LTE_4 y la resistencia de las vías aéreas (evaluada por R_{int}) ni con el grado de respuesta a un broncodilatador.

INTRODUCCION

La displasia broncopulmonar (DBP) es una entidad descrita por primera vez en 1967 por Northway y col. ¹ Ocurre principalmente en recién nacidos pretérmino que son egresados de las unidades de cuidados intensivos neonatales (UCIN), en donde reciben ventilación mecánica y altas fracciones inspiradas de oxígeno para el tratamiento del síndrome de dificultad respiratoria neonatal (SDR). Se caracteriza por daño de la vía aérea, inflamación y fibrosis del parénquima pulmonar, así como cambios vasculares hipertensivos. Se sabe que en los niños pretérmino bajo ventilación mecánica la inflamación pulmonar temprana por neutrófilos y macrófagos está estrechamente relacionada con el desarrollo de DBP. Esta inflamación favorece la destrucción del tejido conectivo pulmonar, daño del epitelio alveolar y del endotelio vascular, conduciendo a la formación de fibrosis pulmonar, dando como resultado terminal la DBP ^{2,3}. Lo anterior condiciona insuficiencia respiratoria crónica que se corrige parcialmente con oxígeno, por lo que el diagnóstico clínico de DBP se establece cuando existe necesidad de oxígeno suplementario a los 28 días de vida extrauterina, ó 36 semanas de edad gestacional corregida, para poder mantener una saturación de oxígeno de por lo menos del 93%. ⁴

Durante el proceso inflamatorio se liberan diversas citocinas, como son las interleucinas (IL)-1, IL-6, IL-8 y el factor de necrosis tumoral. Además, los macrófagos y otras células tienen una alta capacidad para producir leucotrienos (LT) C₄, LTD₄ y LTE₄. En aquellos pacientes que reciben surfactante como terapéutica para el NRDS los cambios anatomopatológicos difieren un poco, ya que el tejido pulmonar es más elástico y libre de metaplasia epitelial, pero con menor cantidad de alveolos, y mayor tamaño en sus dimensiones, indicando una interferencia en la formación de septos y, por ende, en el desarrollo de la microvasculatura, así como alteraciones en las fibras elásticas con engrosamiento peribronquial ^{4,5}.

Una vez iniciados los cambios estructurales de la DBP en el recién nacido, sus efectos en la función pulmonar persisten durante las etapas de lactantes y

edad preescolar. Se ha documentado la presencia de incremento de la resistencia de la vía aérea y del volumen residual desde la etapa de lactante en estos pacientes ⁶. La evolución posterior a esta época de la vida muestra cambios en las pruebas de función pulmonar, como son: disminución del flujo espiratorio forzado y de la capacidad vital forzada, sugiriendo obstrucción de las vías aéreas y atrapamiento aéreo persistente tan prolongado como los 11 años de vida ⁷⁻¹⁰, así como incremento en el consumo de oxígeno y retención de CO₂ durante el ejercicio ¹¹.

Los lactantes o preescolares con DBP suelen también cursar con afecciones en diferentes órganos. Por ejemplo, hipertensión arterial pulmonar, hipertrofia e insuficiencia cardíaca, alteraciones neurológicas secundarias a la hipoxia neonatal, hemorragia intracraneal, parálisis cerebral infantil con pérdida de la capacidad visual y auditiva, retraso en el desarrollo del lenguaje, reflujo gastroesofágico, retraso del crecimiento y desarrollo, desnutrición, irritabilidad, etc. Sin embargo, la morbilidad que más provoca rehospitalizaciones de estos pacientes ocurre a nivel respiratorio, ya que suelen cursar con hiperreactividad de las vías aéreas, broncospasmo, infecciones pulmonares recurrentes, secuelas laringotraqueales, y anomalías crónicas del intercambio gaseoso (con hipoxemia e hipercapnia). La hiperreactividad de las vías aéreas se define como una respuesta broncoobstructiva exagerada ante estímulos comunes (ejercicio, frío, emociones, etc) o químicos (metacolina, histamina, etc), que en sujetos sanos no causan obstrucción, o ésta es de mucho menor intensidad.⁹ Aunque los mecanismos de producción de la hiperreactividad y el broncospasmo en la DBP se desconocen, estos dos fenómenos han sido ampliamente estudiados en el asma, en la que se han identificado diversas sustancias que pueden generar tanto hiperreactividad como broncospasmo, destacando entre ellas los cisteinil-leucotrienos ¹²⁻¹⁹.

Los leucotrienos son ácidos grasos biológicamente activos, derivados del ácido araquidónico. Su síntesis implica una serie secuencial de reacciones enzimáticas ^{20,21} que inicia por la acción de la 5-lipooxigenasa sobre el ácido araquidónico (derivado de las membranas) ²² con la formación de LTA₄; en los

neutrófilos el LTA_4 es rápidamente convertido a LTB_4 y en los eosinófilos, células cebadas y macrófagos alveolares el LTA_4 es un sustrato para la síntesis de LTC_4 . Este último compuesto es posteriormente transformado a LTD_4 , que a su vez se transforma a LTE_4 . Los leucotrienos LTC_4 , LTD_4 y LTE_4 son llamados sulfidopeptidoleucotrienos o cisteinil-leucotrienos por contener cisteína y actúan principalmente sobre los receptores $CysLT1$. Los efectos de los cisteinil-leucotrienos a nivel pulmonar incluyen hiperreactividad de las vías aéreas, contracción del músculo liso bronquial, aumento de la permeabilidad vascular, edema e hipersecreción de moco, todo lo cual se encuentra presente en la DBP. Siendo el LTE_4 un metabolito relativamente inactivo y estable, su concentración en orina se ha considerado como un índice de producción de cisteinil-leucotrienos, siendo del orden del 12-20% de la producción de LTC_4 ²³⁻²⁵. En niños escolares asmáticos se han encontrado concentraciones basales de LTE_4 en orina de 16.9 pg/mg de creatinina²⁶.

La mayoría de los estudios sobre leucotrienos y DBP describen una asociación entre niveles elevados de LTB_4 y desarrollo subsecuente de DBP^{3,27,28}. El interés por analizar este leucotrieno (LTB_4) seguramente es debido a su gran capacidad quimiotáctica de neutrófilos, en etapa aguda. Sin embargo, pocos estudios se han encaminado a esclarecer una posible asociación entre DBP y LTC_4 , LTD_4 ó LTE_4 en etapas crónicas.

Puesto que las afecciones respiratorias del tipo de la hiperreactividad de las vías aéreas y el broncospasmo son una de las principales morbilidades con las que cursa el paciente con DBP y que motiva hospitalizaciones frecuentes, y debido a que los cisteinil-leucotrienos poseen propiedades biológicas que fácilmente explicarían estos fenómenos, decidimos investigar si existía una correlación entre los niveles urinarios de LTE_4 , como indicador de la biosíntesis de cisteinil-leucotrienos, y la resistencia de las vías aéreas, así como su respuesta a un broncodilatador.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Habría una correlación directa entre la producción de cisteinil-leucotrienos (medida por los niveles urinarios de LTE₄) y la resistencia de las vías aéreas y respuesta broncodilatadora al salbutamol?

JUSTIFICACIÓN

La DBP es sumamente frecuente. Según cifras obtenidas del Archivo Clínico del Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI, en el año 2003 la DBP constituyó la primera causa de consulta externa del Departamento de Neumología, ya que el 32% (22 de 68) de las consultas de primera vez y el 41% (200 de 480) de las subsecuentes fueron por este padecimiento. Entre las alteraciones respiratorias que frecuentemente tienen los pacientes con DBP durante la lactancia o la edad preescolar se incluye la hiperreactividad de las vías aéreas y el broncospasmo. Por estudios en otra enfermedad respiratoria, el asma, se sabe que los cisteinil-leucotrienos tienen un papel importante en la generación de estos dos fenómenos. Si bien en la DBP el broncospasmo pudiera ser reversible parcialmente con el uso de un broncodilatador como el salbutamol, la presencia subyacente de hiperreactividad de las vías aéreas requiere de un tratamiento antiinflamatorio, del tipo de los corticosteroides. Sin embargo, es bien sabida la potencialidad que tienen los esteroides para producir efectos secundarios. Por lo tanto, si logramos demostrar que también en la DBP hay indicios de que los cisteinil-leucotrienos tienen un papel en la generación de hiperreactividad de las vías aéreas, daría pie a estudios subsecuentes para evaluar la posibilidad de alternativas de tratamiento más específico (por ejemplo, con el empleo de fármacos con propiedades bloqueadoras de los receptores a leucotrienos) y con menos efectos secundarios.

HIPOTESIS DE TRABAJO

En niños con DBP existe una correlación directa entre la producción de cisteinil-leucotrienos y la resistencia de las vías aéreas y el porcentaje de broncodilatación inducida por salbutamol.

OBJETIVO GENERAL

1. Determinar la correlación entre los niveles de LTE₄ y el incremento de la resistencia de la vía aérea o el grado de broncodilatación por salbutamol en pacientes con DBP.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Cuantificar los niveles urinarios de LTE₄ en niños con diagnóstico de DBP.
2. Determinar el grado de obstrucción de la vía aérea, demostrado por medición de la resistencia a través del método de la interrupción, en niños con diagnóstico de DBP.
3. Determinar el grado de respuesta broncodilatadora que se obtiene después de la administración de salbutamol en niños con diagnóstico de DBP.
4. Correlacionar los niveles urinarios de LTE₄ y la resistencia de la vía aérea.
5. Correlacionar los niveles urinarios de LTE₄ y el grado de broncodilatación por salbutamol.

MATERIAL Y MÉTODOS.

El presente trabajo fue un estudio prospectivo, transversal, analítico y observacional, realizado de mayo a agosto de 2005 en el departamento de Neumología del Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS, que es un hospital de tercer nivel dedicado a la atención de pacientes menores de 17 años.

Se incluyeron pacientes que asistieron a la consulta externa del Departamento de Neumología (Hospital de Pediatría, CMN SXXI), anotados en el registro de pacientes dependientes de oxígeno (Hospital de Pediatría, CMN SXXI), o egresados del Hospital de Gineco-Obstetricia No. 4 Luis Castelazo Ayala, que cumplieron los siguientes criterios:

CRITERIOS DE INCLUSION

- a) Niños de cualquier sexo con edad mayor a 28 días de vida.
- b) Pacientes con diagnóstico de DBP establecido por antecedente de asistencia mecánica ventilatoria y/o oxígeno suplementario en el período neonatal, así como de dependencia de oxígeno suplementario al día 28 de vida ó 36 semanas de edad gestacional corregida.
- c) Pacientes cuyos padres o tutores aceptaron la participación del niño en el estudio mediante firma de carta de consentimiento informado.

CRITERIOS DE EXCLUSION

- a) Pacientes con traqueostomía (ya que se excluiría la vía aérea superior, que también contribuye en la resistencia total de la vía aérea).
- b) Pacientes con sospecha de obstrucción nasal, secuelas laringotraqueales del tipo estenosis localizada o laringomalacia y/o traqueomalacia (ya que podrían generar un aumento de la resistencia, sin que necesariamente sea reflejo de las DBP).
- c) Pacientes con sospecha de infección (ya que podría incrementar los niveles urinarios de LTE₄. Estos niños pudieron ingresar al estudio 4 semanas después de terminada la infección).
- d) Pacientes expuestos al humo de tabaco en el último mes (ya que algunos estudios muestran que el tabaquismo activo en adultos puede incrementar los niveles de leucotrienos ^{29,30}).
- e) Pacientes que en los últimos 14 días hayan recibido algún medicamento antileucotrieno.

DEFINICION DE VARIABLES:

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	ESCALA DE MEDICION
<i>Variable independiente</i>			
Leucotrieno E ₄	Autacoide, producto final del metabolismo de LTC ₄ y LTD ₄ , que se mantiene estable y puede ser detectado en orina.	Cantidad de leucotrieno E ₄ que se mida en orina, ajustada por la concentración de creatinina en la misma muestra	Cuantitativa continua (pg/mg creatinina)

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	ESCALA DE MEDICIÓN
<i>Variable dependiente</i>			
Resistencia de las vías aéreas	Oposición que presentan las vías aéreas al flujo de aire	Valor obtenido mediante el método de la interrupción del flujo, en el cual el equipo hace una oclusión súbita y breve (fracción de segundo), calculando en ese momento cambios en flujo y presión	Cuantitativa continua (KPa·L·s ⁻¹)
Grado de broncodilatación	Modificación en la resistencia de la vía aérea posterior al uso de un broncodilatador de acción rápida	Porcentaje de cambio de la resistencia de las vías aéreas posterior a la inhalación de 200 µg de salbutamol	Cuantitativa continua (%)
<i>VARIABLES UNIVERSALES</i>			
DBP	Requerimiento de oxígeno suplementario a los 28 días de vida ó 36 semanas de edad gestacional corregida para mantener una saturación de oxígeno mayor de 93% en estado tranquilo.	La misma que la conceptual.	Dicotómica (presente o ausente)
Género	Categoría de un individuo basada en los cromosomas sexuales	Se determinará en femenino o masculino según fenotipo.	Cualitativa dicotómica (masculino/femenino)
Edad	Duración de la existencia de un individuo medida en unidades de tiempo a partir de su nacimiento	La misma que la definición conceptual. Se calculará con la fecha de nacimiento.	Cuantitativa continua (meses)
<i>VARIABLES DE CONFUSIÓN</i>			
Antecedente familiar o personal de atopia	Antecedente de que alguno de los padres o hermanos presenta rinitis alérgica, dermatitis atópica o asma.	La misma que la definición conceptual.	Cualitativa dicotómica (sí/no)
Uso actual de corticosteroide	Aplicación de algún corticosteroide por vía inhalada u oral en las últimas 3 semanas.	La misma que la definición conceptual.	Cualitativa dicotómica (sí/no)
Alteración de la mecánica de la deglución	Disfunción de la secuencia fisiológica de movimientos que permiten el paso del bolo alimentario desde la cavidad oral hacia el estómago	Síntomas sugestivos (reflujo faringonasal, atragantamiento o tos durante la alimentación), con imagen radiológica contrasta positiva en cualquiera de sus fases.	Cualitativa (alteración en la fase I, fase II o fase III)
Enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE)	Regurgitación del contenido gástrico hacia el esófago, ocasionando síntomas respiratorios o falta de ganancia ponderal.	Síntomas sugestivos (posición de Sandifer, llanto después de la alimentación, broncospasmo, neumonías de repetición), y serie esofagogastroduodenal o gammagrama gastro esofágico positivo para reflujo, con o sin broncoaspiración.	Ordinal (0=sin ERGE, 1=ERGE sin broncoaspiración, 2=ERGE con broncoaspiración)

DISEÑO MUESTRAL

Tamaño de la muestra: La muestra se calculó basándose en que se desea demostrar que hay una correlación significativa entre LTE₄ urinario y resistencia de la vía aérea. Por lo tanto, se empleó la siguiente fórmula, recomendada por Zar³¹, esperando encontrar una r=0.5 entre estas variables, y con un poder del 80% y un nivel α de 0.05:

$$N = \left(\frac{Z \beta(1) + Z\alpha}{\xi 0.01} \right)^2 + 3 = \left(\frac{0.84 + 1.96}{0.5493} \right)^2 + 3 = 28.9$$

Esta cifra es similar a la proporcionada por Hulley y col.³² empleando los mismos parámetros. Considerando 20% adicional de sujetos que abandonen el estudio, la n total será de 35 niños.

DESCRIPCION DEL ESTUDIO:

Se reclutaron pacientes con diagnóstico de DBP y con cambios radiológicos característicos, de la consulta externa de neumología, del registro de pacientes dependientes de oxígeno del Hospital de Pediatría, CMN SXXI, y de pacientes egresados entre septiembre de 2004 y julio de 2005 del Hospital de Gineco-Obstetricia No. 4 Luis Castelazo Ayala. En algunos casos, se realizó contacto telefónico con la madre o tutor del paciente y se estableció la cita para el estudio. Se solicitó al familiar que el día del estudio el paciente llegara al consultorio con desvelo de 4 a 6 horas y ayuno por el mismo lapso. A su llegada a la consulta externa de Neumología, se les explicó nuevamente el objetivo y procedimientos del estudio. Si eran dependientes de oxígeno, se les colocaba en una una toma para la administración del mismo. Una vez firmada la carta de consentimiento informado, al paciente se le administró su alimento habitual, se le colocó una bolsa recolectora de orina y se esperó que se durmiera espontáneamente o a que estuviera tranquilo y cooperador. En estos momentos se le realizó la evaluación de la resistencia pulmonar por el método de la interrupción, antes y después de la administración de dos disparos de salbutamol, mientras se medía oximetría de pulso. Si el paciente usaba habitualmente oxígeno suplementario, éste se le

retiraba durante aproximadamente 30 a 40 segundos, mientras se efectuaba la primera medición de la resistencia y se administraba el salbutamol, posteriormente, se colocaba nuevamente el oxígeno hasta la siguiente medición, donde se repetía la operación. Por último, se esperó que el paciente orinara y esta muestra de orina se colocó inmediatamente en un congelador a -20°C , donde permaneció hasta el momento de su análisis.

Determinación de LTE₄ en orina

La determinación de LTE₄ se hizo mediante ensayo inmunoenzimático competitivo con un kit comercial (Cayman Chem Co., Ann Arbor, MI). Brevemente descrita, esta prueba está basada en que el LTE₄ presente en las muestras de orina y un conjugado de LTE₄-acetilcolinesterasa (LTE₄ trazador) compiten por una cantidad limitada de anticuerpos de conejo anti-LTE₄. Debido a esta competencia, la cantidad de LTE₄ trazador que es capaz de unirse a los anticuerpos será inversamente proporcional a la concentración de LTE₄ en la muestra de orina. La mezcla de estos reactivos se realiza en una placa de reacción que tiene fijado un anticuerpo monoclonal murino anti-IgG de conejo. Este anticuerpo monoclonal captura a los anticuerpos anti-LTE₄, que a su vez han capturado LTE₄ trazador y LTE₄ de la muestra de orina. La placa se lava para eliminar todos los reactantes no ligados por el anticuerpo monoclonal, y entonces se añade reactivo de Ellman, que contiene el sustrato para la acetilcolinesterasa. El producto de la reacción enzimática produce un color amarillento distintivo que absorbe luz a 412 nm. La intensidad de este color, determinada por espectrofotometría, es proporcional a la cantidad de LTE₄ trazador unido a la placa, que a su vez es inversamente proporcional a la cantidad de LTE₄ presente en la muestra. La concentración de LTE₄ en orina se calculan extrapolando las densidades ópticas en una curva control hecha con concentraciones conocidas de LTE₄.

Para evitar diferencias debidas a variaciones en la uresis, la concentración de LTE₄ se ajustó dividiendo entre la creatinina urinaria (medida por métodos automatizados).

Medición de la resistencia de la vía aérea

Estando el niño en decúbito dorsal, y con respiración tranquila (dormido o despierto) se le colocó una mascarilla sellando nariz y boca, conectada al dispositivo para medición de resistencia de las vías aéreas (MicroLab con MicroRint integrado, MicroMedical LTD, UK). Esta medición está basada en el principio de la interrupción de la respiración, que consiste en que el equipo realiza una oclusión rápida del flujo aéreo (0.1 seg). Durante la interrupción la presión alveolar se equilibra con la presión de las vías aéreas (P_{ao}), y un neumotacógrafo integrado permite la medición del flujo (F) inmediatamente antes de la interrupción. Esto permite al equipo el cálculo automático de la resistencia de las vías aéreas (R_{int}) mediante la ecuación $R_{int}=P_{ao}/F$ (**Figura 1**). El uso de este dispositivo de resistencia por el método de interrupción, ha demostrado ser una alternativa útil en pacientes que no pueden realizar maniobras espiratorias forzadas, en una amplia gama de edades, con una variabilidad menor al 20% y una reproducibilidad elevada.³³⁻³⁵ Para el presente estudio el equipo se ajustó para que la oclusión ocurriera al final de la espiración, durante un ciclo ventilatorio escogido aleatoriamente por el mismo equipo.

Para evaluar el grado de broncodilatación, después de tener una medición basal de la resistencia de la vía aérea se le colocó al paciente un espaciador de plástico con mascarilla (AeroChamber®, Trudell Medical Internacional, Canadá), dentro del cual se aplicaron dos disparos de 100 μ g de salbutamol cada uno (dosis total, 200 μ g). Se permitió que el paciente respire el aerosol durante 10 seg. Después de 10 min se repitió la medición de la resistencia de la vía aérea. La broncodilatación se calculó como el porcentaje de cambio de la medición final en comparación con la inicial.

ANALISIS DE LOS DATOS

Se usaron medidas de tendencia central y dispersión para caracterizar a la población en estudio. Debido a la no normalidad de la mayoría de las variables, las diferencias entre hombres y mujeres se evaluaron mediante prueba U de Mann-Whitney. En caso de variables categóricas se empleó la prueba exacta de Fisher

(tablas 2x2) y se empleó también la prueba chi cuadrada para tendencias. La asociación entre LTE₄ y las variables dependientes (resistencia de la vía aérea y grado de broncodilatación) se evaluó mediante análisis de regresión y de correlación. Finalmente, se empleó análisis de regresión lineal múltiple para evaluar simultáneamente la influencia de diversas variables. La significancia estadística se fijó en $p < 0.05$ bimarginal.

ASPECTOS ÉTICOS

Los estudios que se realizaron (resistencia de la vía aérea y LTE₄ en orina) son no invasivos y no representaron riesgo alguno para el paciente. Antes de iniciar el estudio, se explicó ampliamente a los padres el propósito de la investigación y autorizaron el mismo mediante la firma de una carta de consentimiento informado.

RESULTADOS

El estudio se llevó a cabo entre mayo y agosto de 2005. De los sitios de reclutamiento se obtuvo un listado inicial de 95 pacientes con diagnóstico de DBP, de los cuales 34 no tuvieron datos disponibles en el expediente para su localización y 4 padres no aceptaron la participación del paciente en el estudio. De los restantes, se excluyeron 9 pacientes que presentaban infecciones repetitivas de las vías aéreas superiores con períodos menores de 15 días sin enfermedad, 5 pacientes con traqueostomía, 4 pacientes con estenosis bronquial, 4 pacientes que usaban antileucotrienos, 1 paciente con parálisis de la cuerda vocal izquierda, 1 paciente con traqueomalacia y 1 paciente con traqueomalacia y estenosis subglótica. Finalmente, 1 paciente se eliminó del estudio por no poder obtener una muestra adecuada de orina.

Por lo anterior, la población final incluida en el estudio fue de 31 pacientes, de los cuales 15 (48.4%) eran mujeres y 16 (51.6%) eran hombres. Como se puede observar en la **Tabla 1**, no hubo diferencias importantes entre ambos géneros con respecto a las principales características de la población. Se incluyeron pacientes de 3 meses a 9 años de edad, todos ellos con antecedente

de prematuridad. El 29% de los pacientes tuvieron antecedente familiar (padre, madre o hermanos) de atopia, en especial de rinitis alérgica, el 63% tuvieron antecedente de ERGE, 48% datos clínicos o imagenológicos de broncoaspiración, y 32% antecedente de cardiopatía (PCA, excepto uno con CIA). La mayoría de los pacientes (61%) a quienes se les realizó ecocardiografía tuvieron cifras elevadas de presión arterial pulmonar media. Finalmente, el 64% de los pacientes habían tenido al menos una visita a la sala de Urgencias o una hospitalización debidas a problemas respiratorios.

En la **Tabla 2** se muestran que resultados de la evaluación de la R_{int} . Los valores basales de la R_{int} variaron entre 1.52 y 6.47 $KPa \cdot L \cdot s^{-1}$. La respuesta al salbutamol fue sumamente heterogénea, ya que este fármaco produjo broncodilatación en algunos pacientes (con una disminución de la R_{int} de hasta el 49.6%), mientras que en otros causó una elevación de la R_{int} de hasta 55.6%. La oximetría de pulso, medida después del uso de broncodilatador y sin oxígeno suplementario, varió de 75 a 97%. Los datos anteriores no tuvieron diferencias estadísticamente significativas al comparar los dos sexos.

La media de concentración de LTE_4 en orina fue de 1000 ± 1200 $pg/mgCr$ urinaria. Como se puede observar en la misma tabla, así como en la **Figura 2**, la concentración de LTE_4 en orina fue mayor en los pacientes masculinos ($p=0.03$). Por otra parte, no hubo diferencia en el nivel de LTE_4 urinario entre aquellos pacientes que estaban recibiendo corticosteroides inhalados [0.36 ($0.11-2.00$) ng/mg creatinina, $n=13$], en comparación con los que no los recibían [0.80 ($0.17-6.03$) ng/mg creatinina, $n=18$, $p=0.44$].

Nuestro objetivo principal fue evaluar si la concentración urinaria de LTE_4 correlacionaba con la R_{int} o la broncodilatación y, como se puede ver en la **Figura 3**, dicha asociación no existe, ya que estas evaluaciones tuvieron coeficientes de correlación de $r = 0.12$ y $r=-0.13$, respectivamente, ambos sin significancia estadística. Esta ausencia de correlación entre LTE_4 y R_{int} persistió al dividir la población de pacientes de acuerdo a otras variables como sexo, atopia, uso de esteroides y presencia de ERGE (datos no mostrados). De igual forma, esta ausencia de asociación se demostró por regresión lineal múltiple, ya que el único

factor que entró a formar parte del modelo de regresión fue la edad, descartando la influencia de las otras variables, incluyendo los niveles urinarios de LTE₄.

Finalmente, encontramos que el valor basal de la R_{int} tuvo una correlación muy importante con la edad, que se hizo más aparente cuando esta última variable se manejó de forma logarítmica. Así, la R_{int} disminuyó conforme avanzaba la edad (**Figura 4**) con un coeficiente de correlación de $r = -0.58$, $p=0.0006$.

DISCUSION

La gran mayoría de estudios que han explorado el papel de los leucotrienos en la DBP se han encaminado a evaluar su posible papel en el desarrollo de esta enfermedad en el neonato. Por ejemplo, Davidson y col.³⁶ encontraron que a los 30 días de vida la concentración de LTE₄ en orina era superior en 26 pacientes con BPD en comparación con 8 pacientes control, con una reducción estadísticamente significativa con el tratamiento con dexametasona, para intentar retiro del ventilador. En un trabajo reciente, Sheik y col.³⁷ estudiaron 37 recién nacidos pretermino, tomándoles mediciones de LTE₄ a en orina a los 2, 7 y 28 días de vida, para establecer relación entre este metabolito y el desarrollo de displasia broncopulmonar, encontrando que en el segundo día de vida los niveles de LTE₄ en orina de niños prematuros se relacionaban en forma inversa con la edad gestacional y el peso al nacimiento, sin que hubiera un incremento del LTE₄ en niños que sí desarrollaron DBP. Como se puede apreciar, estos dos estudios analizan el posible papel de los cisteinil-leucotrienos en el desarrollo de DBP, más no su posible papel para explicar las alteraciones funcionales respiratorias en la DBP ya establecida.

El único estudio que ha hecho medición de LTE₄ urinario en las etapas tardías de la DBP es el de Cook y col.³⁸. Estos autores encontraron que a los 7 meses de vida existía una marcada elevación de LTE₄ en orina de 9 niños con DBP, en comparación con 8 niños de la misma edad, que también habían nacidos pretérmino, pero sin DBP. Al igual que nosotros, estos autores no pudieron demostrar una asociación entre el nivel de LTE₄ urinario y la resistencia de las

vías aéreas, medida ésta por pletismografía corporal, o con el volumen de gas intratorácico o la capacidad funcional residual, aunque estas pruebas de función pulmonar se encontraban alteradas y los niveles de LTE₄ en orina eran altos.

Los niveles de LTE₄ encontrados en niños habitualmente son menores de 100 pg/mg de creatinina ^{15,18,19}; estos se han encontrado elevados tanto en los estudios previos como en el nuestro (**Figura 5**). Comparando los niveles de LTE₄ con los estudios previos y el actual, observamos un incremento del LTE₄ en un pico máximo al mes de edad, para posteriormente descender alrededor del año de edad y nuevamente incrementarse, a la edad de nuestra evaluación. Nosotros encontramos niveles elevados de LTE₄ en una media de 16 meses de vida, pero incluimos pacientes de mayor edad. La variabilidad de los niveles de LTE₄ es alta en los estudios previos, así como en el nuestro.

En cuanto a la resistencia de la vía aérea, los estudios muestran que los niveles de la misma en niños sanos blancos mayores de 3 años es de 0.725 ± 0.22 de Rint espiratorio.³⁹ En niños de 31 a 56 días, la resistencia en 14 lactantes sanos no sedados varió entre 2.90 a 6.52 (media de 4.13 ± 0.29).⁴¹ En niños con sibilancias persistentes menores de 18 meses, la resistencia es de 2.94 ± 0.68 .⁴² La resistencia en nuestros pacientes fue de 3.31 ± 1.12 , encontrando una correlación inversa entre la edad y la resistencia, confirmando los hallazgos de Lombardi y cols., en un grupo etéreo más pequeño, entre 3 y 24 meses.

La hiperreactividad de las vías aéreas se define como la mayor facilidad que tienen las vías aéreas para disminuir su calibre ante estímulos que en individuos sanos no producirían cambios notables. Si bien la hiperreactividad de las vías aéreas es una de las características más sobresalientes de los pacientes asmáticos, también se ha descrito en otras afecciones, incluyendo la DBP ⁴⁰. La forma habitual de evaluar la hiperreactividad de las vías aéreas es a través de una prueba de reto bronquial, en la cual se administran concentraciones crecientes de un agente broncoconstrictor, midiendo la respuesta sobre la función pulmonar después de cada dosis. Debido a lo complicado de este procedimiento, se ha postulado que también el grado de respuesta a un broncodilatador podría ser un indicador de la reactividad de las vías aéreas. Usando este último enfoque,

nosotros evaluamos si existía una asociación entre la concentración urinaria de LTE_4 y la respuesta broncodilatadora. Nuestros resultados, al igual que con la R_{int} basal, no apoyan esta asociación. Dentro de los 31 pacientes, encontramos variabilidad en la respuesta a broncodilatador: 8 pacientes tuvieron un incremento mayor al 20% de la R_{int} con uso de broncodilatador, 7 pacientes tuvieron una reducción mayor al 20% posterior a los disparos de salbutamol y el resto, no tuvo cambio. Se ha descrito que la hiperreactividad bronquial está presente entre el 42 y 56% de los pacientes con displasia broncopulmonar.^{9,40} En este estudio, encontramos que un 25.8% de nuestros pacientes tuvo esta característica, pero un porcentaje similar, tuvo una respuesta paradójica al mismo. Este dato, al menos en displasia broncopulmonar, no se ha registrado. Es conocido en el asma, la presencia de respuesta paradójica al salbutamol y se ha asociado a la tolerancia al broncodilatador o a un incremento en la hiperreactividad o a una disminución de la protección contra alergen^{os}.^{40,43,44,45} En el análisis de estos pacientes, no encontramos que tuvieran antecedentes de atopia o que tuviesen una comorbilidad agregada, como reflujo gastroesofágico o broncoaspiración. Tampoco encontramos, en este subgrupo, la presencia de asociación entre LTE_4 y la R_{int} . En estos momentos, no tenemos una circunstancia que explique una respuesta paradójica al salbutamol, pero es un hallazgo importante, que deberá tenerse en cuenta para futuros estudios y para el manejo de estos pacientes.

Existe posibilidad de que si exista asociación entre LTE_4 y la R_{int} . En diversos estudios, se ha asociado LTE_4 con el porcentaje de disminución del FEV1 en niños. El hallazgo de la reducción de la resistencia dependiente de la edad, puede ser un factor que modifique la asociación que deseamos encontrar. Por lo tanto, una posibilidad es que la asociación entre LTE_4 y la resistencia de las vías aéreas pudiera ser aparente al ajustar esta última variable por la edad, es decir, al expresar la resistencia de las vías aéreas como porcentaje del valor ideal predicho. Una dificultad que por el momento nos impide realizar dicho ajuste es que los valores de referencia que se han publicado en diversas series solamente incluyen niños a partir de edad preescolar o mayores, por lo que se requieren de estudios subsecuentes para encontrar este valor y ajustar, conforme a la edad, el

porcentaje del predicho. Este será uno de los próximos objetivos de un estudio subsecuente.

CONCLUSION

- No existió una correlación ente los niveles urinarios de LTE_4 y la resistencia de las vías aéreas (evaluada por R_{int}) ni con el grado de respuesta a un broncodilatador.
- El 25.8% de los pacientes tuvieron una respuesta broncodilatadora al salbutamol, mientras que el 22.5% mostraron una respuesta paradójica a este medicamento.

ILUSTRACIONES

TABLA 1. Principales características de la población estudiada

Característica	Mujeres (n=15)	Hombres (n=16)	p*
Edad (meses)	12 (6 a 36)	9 (3 a 108)	0.74
Edad gestacional (semanas)	31 (26 a 36)	30 (27 a 36)	0.47
Peso al nacer (Kg)	1.5 (0.7 a 1.5)	1.2 (0.7 a 2.5)	0.30
Peso actual (Kg)	6.6 (4 a 13.5)	6.33 (3.8 a 11)	0.40
Antecedentes familiares (si/no)			
• Rinitis alérgica	4/11	2/14	0.39
• Asma	3/12	1/15	0.33
• Eczema	1/14	0/16	0.48
ERGE (si/no) ‡	6/6	11/4	0.26
Broncoaspiración (si/no) ‡	3/7	7/4	0.20
Cardiopatía congénita (si/no) ‡	7/7	2/12	0.10
Hipertensión arterial pulmonar (No. pacientes) ‡			
• No (<25 mmHg)	5	2	
• Leve (25-34 mmHg)	4	2	0.12 †
• Moderada (35-44 mmHg)	0	2	
• Grave (>44 mmHg)	1	2	
Visitas a hospital o urgencias (si/no)	9/6	11/5	0.72

Los valores representan mediana (extremos) o frecuencias.

* Prueba U de Mann-Whitney o prueba exacta de Fisher, excepto † prueba chi cuadrada para tendencias

ERGE = Enfermedad por reflujo gastroesofágico

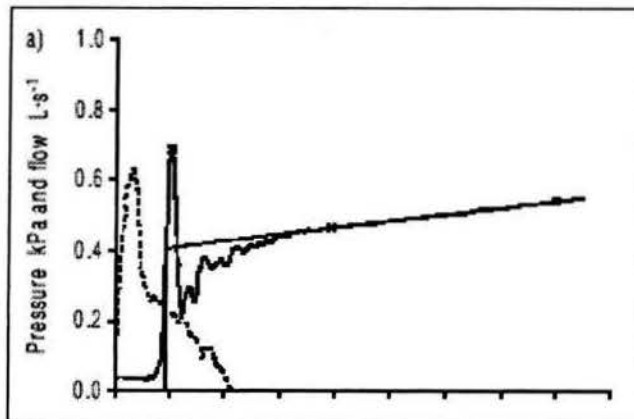
‡Las cifras solo Incluyen pacientes en quienes se realizó la evaluación clínica y/o de gabinete apropiadas para corroborar o descartar el diagnóstico.

TABLA 2. Resultados de la resistencia de las vías aéreas y de LTE₄ en orina

Característica	Mujeres (n=15)	Hombres (n=16)	p *
R _{int} basal (KPa·L·s ⁻¹)	3.47 (1.52 a 4.89)	3.33 (1.73 a 6.47)	0.71
R _{int} post-broncodilatador (KPa·L·s ⁻¹)	2.96 (1.30 a 5.40)	3.66 (1.81 a 5.31)	0.74
Respuesta broncodilatadora (% cambio)	-3.7 (-49.6 a 55.6)	-8.4 (-33.8 a 37.8)	0.95
SpO ₂ post-broncodilatador (%)	91.0 (83 a 96)	91.5 (75 a 97)	0.89
LTE ₄ (pg/mg creatinina)	340 (110 a 2000)	1040 (210 a 6030)	0.03



A



B

Fig 1.A. Micro Rint con microLab B. Curva adecuada con medición de la resistencia de la vía aérea durante 100 ms

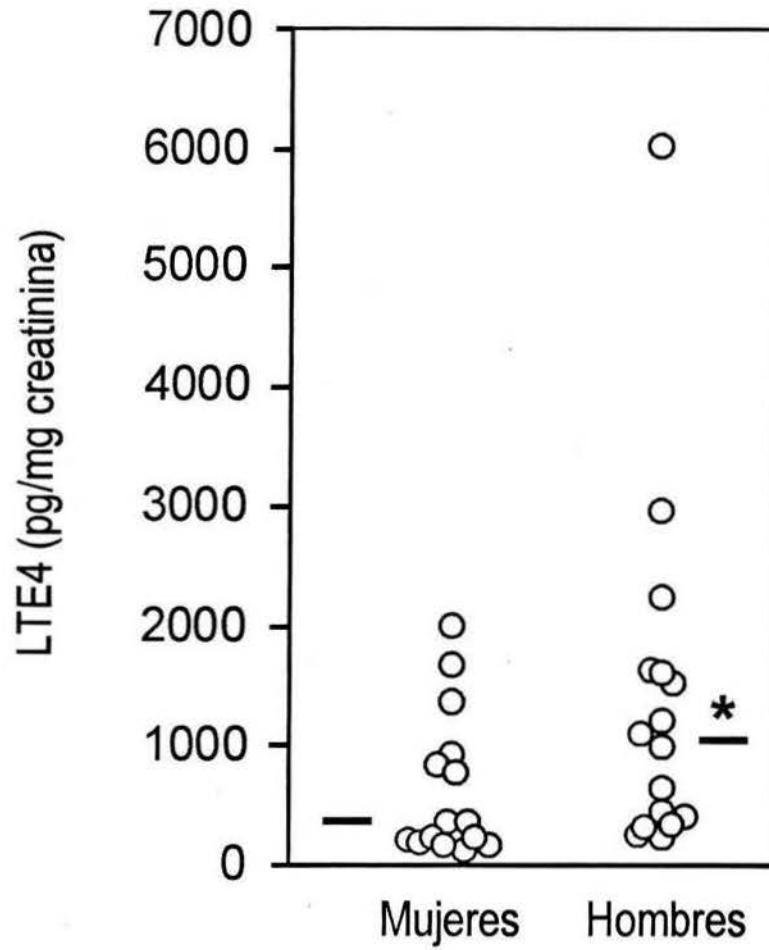


Figura 2. Niveles de leucotrieno E4 (LTE4) en pacientes con displasia broncopulmonar establecida. Las líneas horizontales representan la mediana. *p=0.03

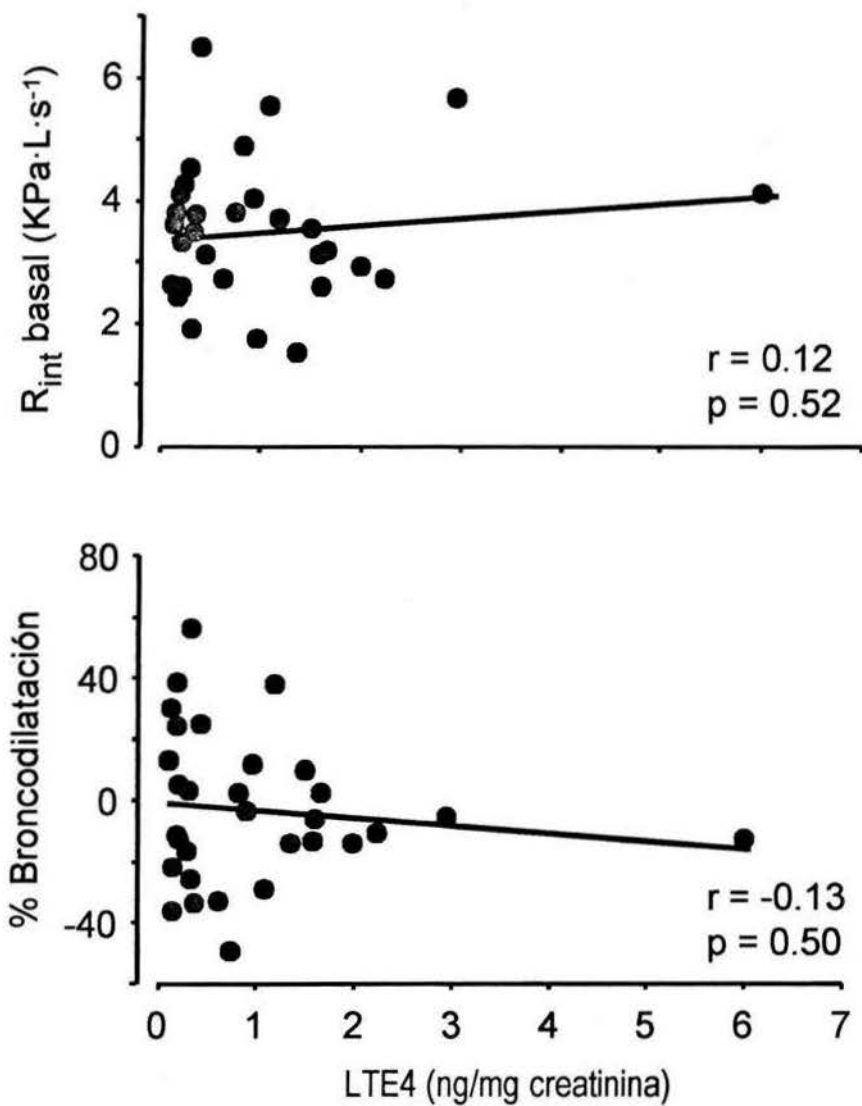


Figura 3. Asociación entre niveles urinarios de leucotrieno E4 (LTE4) y la resistencia de las vías aéreas (R_{int}) y grado de broncodilatación en pacientes con displasia broncopulmonar. En cada gráfica se muestra el coeficiente de correlación (r) y la significancia estadística.

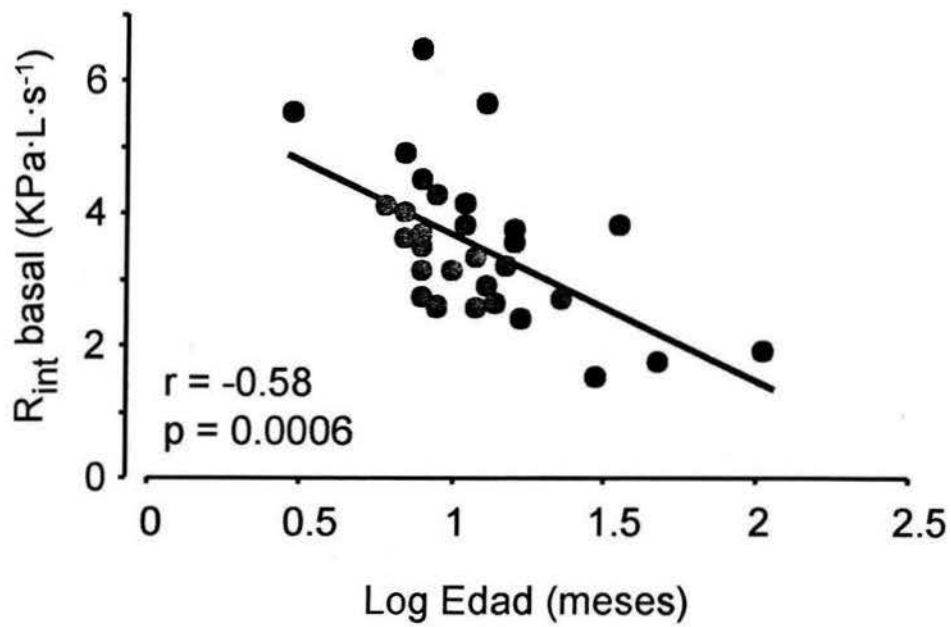


Figura 4. Asociación entre resistencia de la vía aérea y edad, en pacientes con displasia broncopulmonar establecida.

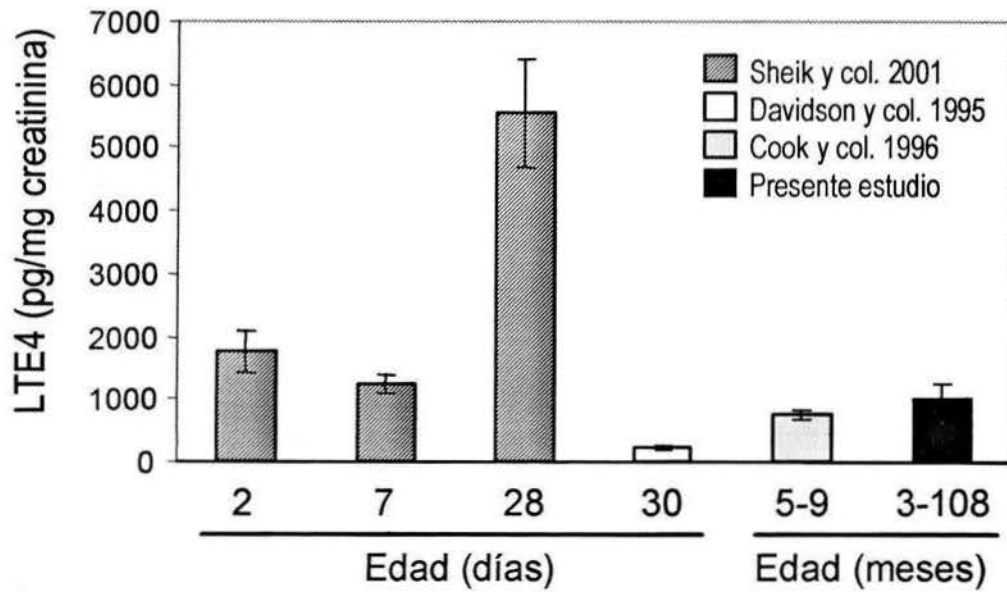


Figura 5. Niveles de LTE₄ encontrados en la literatura médica y en el presente estudio. Los estudios corresponden a las referencias 36-38. Los datos corresponden a promedio ± error estándar.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

REFERENCIAS

1. Northway WH Jr, Rosan RC, Porter DY. Pulmonary disease following respiratory therapy of hyaline membrane disease: bronchopulmonary dysplasia. *N Engl J Med* 1967; 276:357-68.
2. Pierce MR, Bancalari E. The role of inflammation in the pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia. *Pediatr Pulmonol* 1995;19:371-5.
3. Groneck P, Gotze- Speer B, Opperman M, Effert H, Speer CP. Association of pulmonary inflammation and increased microvascular permeability during the development of BPD: A sequential analysis of inflammatory mediators in respiratory fluids of high risk preterm neonates. *Pediatrics* 1994; 93:712-8.
4. Jobe AH, Bancalari E. Bronchopulmonary dysplasia. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163:1723-9.
5. Clark RH, Gerstmann DR, Jobe AH, Moffitt ST, Slutsky AS, Yoder BA. Lung injury in neonates: Causes, strategies for prevention, and long term consequences. *J Pediatr* 2001; 139:478-86.
6. Kraemer R. Whole body plethysmography in the clinical assessment of infants with bronchopulmonary diseases. *Respiration* 1993;60:1-8.
7. Gross SJ, Anbar RD, Mettelman BB. Follow-up at 15 years of preterm infants from a controlled trial of moderately early dexamethasone for the prevention of chronic lung disease. *Pediatrics*. 2005;115:681-7
8. Kennedy JD, Edwad LJ, Bales DJ, et al. Effects of birthweight and oxygen supplementation on lung function in late childhood in children of very low birth weight. *Pediatr Pulmonol* 2000; 30:32-40.
9. Smyth JA, Tabachnik E, DuncanWJ, Reilly BJ, Levison H. Pulmonary function and bronchial hyperreactivity in long term survivors of bronchopulmonary dysplasia. *Pediatrics* 1981; 68:336-40.

10. Gross SJ, Iannuzzi DM, Kveselis DA, Anbar RD. Effect of preterm birth on pulmonary function at school age: A prospective controlled study. *J Pediatr* 1998; 133:188-92.
11. Bader D, Ramos A, Lew CD, Platzker ACG, Stabile MW, Keens TG. Childhood sequelae of infant lung disease: Exercise and pulmonary function abnormalities after bronchopulmonary dysplasia. *J Pediatr* 1987; 110:693-9
12. Gauvreau GM, Parameswaran KN, Watson RM, O'Byrne PM. Inhaled leukotriene E(4), but not leukotriene D(4), increased airway inflammatory cells in subjects with atopic asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001; 164:1495-500.
13. Wood-Baker R, Town GI, Benning B, Holgate ST. The reproducibility and effect on non-specific airway responsiveness of inhaled prostaglandin D2 and leukotriene D4 in asthmatic subjects. *Br J Clin Pharmacol* 1995; 39:119-23.
14. Laitinen LA, Laitinen A, Haahtela T, Vilkkala V, Spur BW, Lee TH. Leukotriene E4 and granulocytic infiltration into asthmatic airways. *Lancet* 1993; 341(8851):989-90.
15. Christie PE, Tagari P, Ford-Hutchinson AW, Black C, Markendorf A, Schmitz-Schumann M, Lee TH. Urinary leukotriene E4 after lysine-aspirin inhalation in asthmatic subjects. *Am Rev Respir Dis* 1992; 146:1531-4.
16. Rasmussen JB, Eriksson LO, Margolskee DJ, Tagari P, Williams VC, Andersson KE. Leukotriene D4 receptor blockade inhibits the immediate and late bronchoconstrictor responses to inhaled antigen in patients with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1992; 90:193-201.
17. O'Hickey SP, Hawksworth RJ, Fong CY, Arm JP, Spur BW, Lee TH. Leukotrienes C4, D4, and E4 enhance histamine responsiveness in asthmatic airways. *Am Rev Respir Dis* 1991; 144:1053-7.
18. Christie PE, Tagari P, Ford-Hutchinson AW, Charlesson S, Chee P, Arm JP, Lee TH. Urinary leukotriene E4 concentrations increase after aspirin challenge in aspirin-sensitive asthmatic subjects. *Am Rev Respir Dis* 1991; 143:1025-9.

19. Manning PJ, Rokach J, Malo JL, Ethier D, Cartier A, Girard Y, Charleson S, O'Byrne PM. Urinary leukotriene E4 levels during early and late asthmatic responses. *J Allergy Clin Immunol.* 1990; 86:211-20.
20. Samuelsson B. Leukotrienes: mediators of immediate hypersensitivity reactions and inflammation. *Science* 1983; 220:568-75.
21. Mayatepek E, Hoffmann GF. Leukotrienes: biosynthesis, metabolism and pathophysiologic significance. *Pediatr Res* 1995; 37:1-9.
22. Woods JW, Evans JF, Ethier D, et al. Lipoxygenase and 5-lipoxygenase activating protein are localized in the nuclear envelope of activated human leukocytes. *J Exp Med* 1993; 178:1935-46.
23. Maltby NH, Taylor GW, Ritter JM, et al. Leukotriene C4 elimination and metabolism in man. *J Allergy Clin Immunol* 1990;85:3-9
24. Sala A, Voelkel N, Maclouf J, Murphy R. Leukotriene E4 elimination and metabolism in normal human subjects. *J Biol Chem* 1990; 265: 21771-8
25. Verhagen J, Bel EH, Kijne GM, et al. The excretion of leukotriene E4 into urine following inhalation of leukotriene D4 by human individuals. *Biochem Biophys Res Commun* 1987;148:864-8
26. Christie PE, Yntema JL, Tagari P, Ysselstijn H, Ford-Hutchinson AW, Lee TH. Effect of altitude on urinary leukotriene (LT) E4 excretion and airway responsiveness to histamine in children with atopic asthma. *Eur Respir J* 1995; 8:357-63.
27. Mirro R, Armstead W, Leffler C. Increased airway leukotriene levels in infants with severe bronchopulmonary dysplasia. *Am J Dis Child* 1990; 144:160-1.
28. Motoyama E, Chaney H, Dworzit A, et al. Early appearance of neutrophil chemotaxis leukotriene B4 (LTB4) and airway reactivity in infants with bronchopulmonary dysplasia. *Am Rev Respir Dis* 1986; 133(Suppl):A207
29. Saareks V, Ylitalo P, Alanko J, Mucha I, Riutta A. Effects of smoking cessation and nicotine substitution on systemic eicosanoid production in man. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2001; 363: 556-61.

30. Fauler J, Frolich JC. Cigarette smoking stimulates cysteinyl leukotriene production in man. *Eur J Clin Invest* 1997; 27:43-7.
31. Zar JH. *Biostatistical analysis*. 4^a ed. Upper Saddle River: Prentice Hall. 1999. p. 386.
32. Hulley SB, Cummings SR, Browner WS, Grady D, Hearst N, Newman TB. *Design clinical research. An epidemiological approach*. 2a. ed. Philadelphia: Lippincott WW. 2001.
33. Merkus PJFM, Arets HGM, Joosten T, et al. Measurements of interrupter resistance : reference values for children 3-13 yrs of age. *Eur Respir J* 2002;20:907-11.
34. Chan EY, Bridge PD, Dundas I, Pao CS, Healy MJR, McKenzie SA. Repeatability of airway resistance measurements made using the interruptor technique. *Thorax* 2003;58:344-7
35. Beelen RMJ, Smit HA, van Strien RT, et al. Short and long term variability of the interruptor technique under field and standardised conditions in 3-6 year old children. *Thorax* 2003;58:761-4.
36. Davidson D, Drafta D, Wilkens B. Elevated urinary leukotriene E4 in chronic lung disease of extreme prematurity. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151:841-5.
37. Sheik S, Null D, Gentle D, et al. Urinary leukotriene E4 excretion during the first month of life and subsequent bronchopulmonary dysplasia in premature infants. *Chest* 2001; 119:1749-54.
38. Cook AJ, Yuksel B, Sampson AP, et al. Cysteinil leukotriene involvement in chronic lung disease in premature infants. *Eur Respir J* 1996; 9:1907-12.
39. Lombardi, E. Sly D, Concutelli G, et al. Reference values of interrupter respiratory resistance in healthy preschool white children. *Thorax* 2001; 56:691-5
40. Pelkonen A, Hakulinen A, Turpeinen M. Bronchial lability and responsiveness in school children born very preterm. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:1178-84.

41. Hall GL, Wildhaber JH, Cerneic M, Frey U. Evaluation of the interruptor technique in healthy, unsedated infants. *Eur Respir J* 2001;18:962-6
42. Cavase RJ, Bastian-Lee Y, Seddon P. Comparison of resistance measured by the interruptor technique and by passive mechanics in sedated infants. *Eur Respir J* 2001; 18:330-4.
43. Wraight JM, Hancox RJ, Herbison GP, Cowan JO, Flannery EM, Taylor DR. Bronchodilator tolerance: the impact of increasing bronchoconstriction. *Eur Respir J*. 2003;21:810-5.
44. Kerckmar C. Asthma. En: Disorders of the respiratory tract in children. Chernick V, Boat T. Ed. WB Saunders 1998. pp 688-730
45. Girodet PO, Berger P, Martinez B, Marthan R, Advenier C, Molimard M. Paradoxal effect of salbutamol in an in vitro model of bronchoprotection. *Fundam Clin Pharmacol*. 2005 Apr;19(2):179-86.

ANEXO 1

HOJA DE RECOLECCION DE DATOS

FECHA (día/mes/año): _____ / _____ / _____ **No. Progresivo:** _____

DATOS GENERALES:

Nombre: _____ Cédula: _____

Edad: _____ Sexo: (M) (F)

Fecha de nacimiento (d/m/a): _____ / _____ / _____ Edad gestacional _____

Peso al nacimiento.: _____ Peso actual: _____

Hospitalizaciones por causas respiratorias (fechas) _____

Visitas a urgencias por causas respiratorias (fechas): _____

Antecedente de alergia	Paciente	Padre	Madre	Hermanos
Rinitis alérgica				
Dermatitis atópica				
Asma				

MEDICAMENTOS ADMINISTRADOS:

__ Espironolactona	__ Hidralazina	__ Beclometasona
__ Hidroclorotiazida	__ Captopril	__ Fluticasona
__ Furosemide	__ Nifedipina	__ Budesonide
__ Salbutamol	__ Bromuro de ipratropio	__ Antileucotrienos

OTROS _____

DIAGNOSTICOS AGREGADOS:

Hipertensión arterial pulmonar	(NO) (SI) (mmHg PMAP: _____)
Reflujo gastroesofágico	(NO) (SI)
- con broncoaspiración	(NO) (SI)
Alteración de la mecánica	(NO) (SI) (fase: _____)
Cardiopatía congénita	(NO) (SI) (tipo: _____)
Síndrome dismórfico	(NO) (SI) (tipo: _____)
Retraso psicomotor	(NO) (SI) (tipo: _____)

ESTUDIOS REALIZADOS:

SpO₂: Aire ambiental: _____ Oxígeno a 1 L/m: _____ 3 L/m: _____ 5 L/m: _____

Resistencia de la vía aérea PRE-broncodilatador: _____

POST-broncodilatador _____

Creatinina urinaria: _____ LTE₄: _____

**Estudio:**

Correlación entre el incremento de la resistencia de las vías aéreas y la producción de cisteinil-leucotrienos en niños con displasia broncopulmonar.

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Lugar: _____

Fecha: _____

Por medio de la presente acepto que mi hijo(a) _____ participe en el proyecto de investigación titulado "Búsqueda de una posible correlación entre el incremento de la resistencia de las vías aéreas y la producción de cisteinil-leucotrienos en niños con displasia broncopulmonar".

Sé que mi hijo(a) tiene daño pulmonar debido a una enfermedad llamada displasia broncopulmonar, y que en esta enfermedad los bronquios suelen obstruirse durante minutos u horas sin causa aparente. Los investigadores me han explicado que el objetivo de este estudio es tratar de investigar por qué ocurre esta reacción anormal en los bronquios, en especial evaluando si compuestos que se producen dentro del cuerpo, llamados cisteinil-leucotrienos, tienen relación con el grado de obstrucción de las vías aéreas.

Se me ha explicado que la participación de mi hijo(a) en este estudio consistirá en tomarle una muestra de orina, para lo cual se le pondrá una bolsita en donde mi hijo(a) orinará espontáneamente, y medirle la "resistencia de las vías aéreas", para lo cual se le pondrá una mascarilla en nariz y boca durante algunos minutos, donde mi hijo(a) respirará normalmente. También entiendo que para poder hacer la medición de la "resistencia de las vías aéreas" el niño debe estar tranquilo y sin llorar, de preferencia dormido, por lo que el día del estudio el niño deberá llegar al consultorio sin haber dormido ni comido en las últimas 4 a 6 h. Poco antes del estudio le daré su alimento habitual. Por lo anterior, se me ha asegurado que el estudio no implica riesgo alguno para mi hijo(a).

El investigador principal se ha comprometido a darme información oportuna, así como a responder cualquier pregunta y aclarar cualquier duda que le plantee acerca de los procedimientos que se llevarán a cabo, los riesgos, beneficios o cualquier otro asunto con la investigación.

Entiendo que conservo el derecho de retirar a mi hijo(a) del estudio en cualquier momento que lo considere conveniente, sin que ello afecte la atención médica que recibe del Instituto.

El investigador principal me ha dado seguridades de que no se identificará a mi hijo(a) en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio y que los datos relacionados con su privacidad serán manejados en forma confidencial.

Nombre y firma del padre, madre o tutor

TESTIGO

Dr. Dr. Guillermo Zúñiga Vázquez
Jefe del Departamento de Neumología,
Hospital de Pediatría, CMN Siglo XXI, IMSS
Tel: 56276900 ext 22289.

Nombre y firma