



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS

**“CORRELACION ENTRE EL INDICE DE MACROFAGOS CARGADOS DE
LIPIDOS EN EL LAVADO BRONCOALVEOLAR Y EL GRADO DE ESOFAGITIS
POR BIOPSIA EN NIÑOS CON ENFERMEDAD POR REFLUJO
GASTROESOFAGICO”.**

T E S I S

PARA OBTENER LA ESPECIALIDAD EN:

NEUMOLOGIA PEDIATRICA

P R E S E N T A:

DR. RIGOBERTO CARRASCO FELIX.

TUTOR:

DR. SALOMON SERGIO FLORES HERNANDEZ.

MÉXICO, DF.

AGOSTO 2007.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DR. SALOMON SERGIO FLORES HERNANDEZ.
MEDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE BRONCOSCOPIA PEDIATRICA, INER.
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE POSTGRADO DE BRONCOSCOPIA
PEDIATRICA, INER.

AGRADECIMIENTOS

A Dios:

Quien me dio la grandeza de la vida.

A mis padres:

Eternamente agradecidos ya que por ellos he cumplido mis sueños, Gracias por darme confianza, amor y apoyo.

A mis hermanos Sara y Omar:

Por estar siempre juntos y apoyándome en todo momento.

Dr. Salomón Sergio Flores Hernández:

Por tener el privilegio de ser mí maestro y amigo, siempre buscando el bien de los niños. Gracias por sus enseñanzas, paciencia y apoyo incondicional.

Dra. Ericka Sagrario Peña Mirabal:

Gracias por sus enseñanzas, apoyo y disponibilidad en todo momento.

A Gilberto, Isaías, Chanon, Hugo, Lulu y Karina:

Porque los amigos son tu familia y compañeros incondicionales cuando estas fuera de tu casa.

Dra. Maria Silvia Lule Morales:

Gracias por permitirme continuar con mi preparación médica y exigirme a dar más en todo momento.

INDICE

Marco teórico.....	1
Planteamiento del Problema.....	9
Justificación.....	10
Objetivo General.....	12
Objetivos Específicos.....	12
Hipótesis.....	13
Material y métodos.....	14
Metodología.....	28
Diseño del Estudio.....	28
Análisis Estadístico.....	31
Resultados.....	32
Graficas y Tablas.....	33
Discusión.....	42
Anexos.....	44
Bibliografía.....	46

MARCO TEORICO

La enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE) es una entidad que describe el reflujo del contenido gástrico ácido al esófago, condicionando con ello sintomatología digestiva y en muchas ocasiones la respiratoria, la permanencia de este reflujo gástrico ácido puede ser de tal magnitud que produzca aspiración pulmonar de estas partículas a las vías aéreas, favoreciendo aún más las manifestaciones respiratorias ⁽¹⁾.

La vía aérea está protegida por la laringe, la cual actúa protegiendo a la misma de la penetración del moco, interviene en la regulación del flujo aéreo y facilita la fonación. A las 12 semanas de gestación el feto inicia los movimientos que se cree que son de succión y deglución, pero no es hasta las 34 semanas de gestación cuando los movimientos son efectivos y coordinados. La laringe humana actúa como una válvula que protege la vía aérea inferior de la penetración de materia sólida y líquida, al ser estimulado se produce un laringoespasma que es un incremento de la presión hasta de 140mmHg de presión. La inervación sensorial de la laringe es a través del nervio laríngeo superior y la función motora es a través del nervio laríngeo recurrente ⁽²⁾.

Existen pacientes que sufren de aspiración pulmonar de material alimentario sin existir ERGE y son aquellos pacientes que sufren de alteración en la mecánica de la succión y deglución, pacientes con alteraciones anatómicas, alteraciones neurológicas y neuromusculares, encontrando entre ellos, pacientes prematuros,

pacientes con hendiduras palatinas, fístula traqueo esofágica, hendidura laringotraqueal, atresia de coanas, parálisis del nervio laríngeo recurrente, asfixia perinatal, hidrocefalia congénita, hemorragia intraventricular, hipotonía infantil, distrofinopatías. Los pacientes intubados por períodos prolongados producen una remodelación del paladar que produce alteración en la succión y deglución, asimismo pacientes traqueostomizados interfieren en el mecanismo de deglución (3, 4).

Mendelson fue el primero en describir la relación entre las manifestaciones respiratorias y el reflujo gastroesofágico describiéndolo como un síndrome tipo asma, la aspiración de pequeñas cantidades de jugo gástrico, (mas de 1 ml/kg con pH menor de 2.5) puede resultar en un compromiso respiratorio agudo y neumonía. La aspiración de menos de 1ml/kg de jugo gástrico, se ha asociado a un proceso respiratorio obstructivo tipo asma. Todo el ácido es aclarado por esófago en dos secuencias peristálticas, y el resto del ácido es neutralizado por la saliva deglutida (5).

Un primer mecanismo que nos ayuda a proteger la propagación del reflujo gastroesofágico hacia la vía aérea es el esfínter esofágico inferior. La relajación del esfínter esofágico inferior es mediada neuralmente bajo condiciones normales y es probablemente que la relajación inapropiada del esfínter condicione un factor importante para el desarrollo de reflujo. La disminución del tono del esfínter esofágico inferior en ausencia de una peristalsis esofágica adecuada es considerada inapropiada y resulta en reflujo gastroesofágico. Un segundo

mecanismo protector es la presencia del esfínter esofágico superior, el cual está constituido anatómicamente por los músculos cricofaríngeos y el constrictor faríngeo inferior, la actividad del esfínter es directamente proporcional a la presión intraluminal del esófago superior ⁽⁶⁾.

Dentro de los síntomas de ERGE el vómito es con mucho la manifestación más común. Otras manifestaciones son la sialorrea, apnea, sibilancias, tos crónica, neumonía recurrente, aspiración, estridor, estenosis laríngea, sinusitis crónica, atragantamiento, otitis media, laringitis crónica, irritabilidad, tos nocturna, llanto incontrolable, rechazo al alimento y muerte súbita ^(7,8). Entre el 40-50% de los lactantes con ERGE tienen síntomas respiratorios ⁽⁷⁾. Se ha observado un incremento de erosión dental en este grupo de pacientes, así mismo se ha asociado a crup en un 49% ^(9, 10). En infantes menores de un año el estridor, atragantamiento, apnea y el síndrome de muerte súbita son los síntomas con mayor frecuencia. En los pacientes mayores de 1 año la tos crónica, sibilancias, disfonía, bronquitis crónica y neumonía recurrente son las más frecuentes ⁽⁶⁾. La extensión del daño pulmonar resultado de la aspiración pulmonar crónica depende de la frecuencia y cantidad aspirada, composición y pH del material aspirado así como la eficacia del aclaramiento pulmonar. La aspiración pulmonar tiene como consecuencia la predisposición a atelectasias, neumonía recurrente, neumonía intersticial, bronquiectasias y fibrosis pulmonar ^(1, 2, 7, 11, 12,13).

Como el esófago proximal está anatómicamente adyacente al pasaje respiratorio, la acidificación del esófago superior mediante el reflujo, se cree que juega un

papel fundamental en la génesis de los síntomas respiratorios asociados a ERGE. El reflujo ácido induce un reflejo esófago bronquial mediado por el nervio vago causando cambios en la función cardiopulmonar, la cual se ha demostrado en humanos sin que exista necesariamente neumonitis química, así mismo se identifica como causa de hiperreactividad de las vías aéreas en algunos niños. Este reflejo vagal se cree es el responsable del laringoespasmo el cual se puede manifestar como apnea obstructiva ó estridor^(5, 6, 14). Los síntomas no respiratorios incluyen pirosis, esofagitis, hematemesis, estenosis esofágica, dolor abdominal recurrente, disfagia, náusea y vómito, con la consecuente falla de medro y desnutrición. Observándose que en estos pacientes se tiene un retraso en el vaciamiento gástrico^(15, 16, 17).

La piedra angular en el diagnóstico es demostrar los eventos de reflujo gastroesofágico patológicos y la aspiración pulmonar. Los estudios de gabinete más comúnmente usados son pHmetría esofágica, serie esófago-gastro-duodenal, centellografía para enfermedad por reflujo gastroesofágico, endoscopia esofágica y broncoscopia para obtener el índice de macrófagos cargados de lipóforos, La serie esófago-gastro-duodenal es la herramienta más comúnmente empleada siendo esta más sensible para la demostración de anomalías anatómicas, como compresión extrínseca por un arco aórtico ó mal rotación, pero para el diagnóstico de ERGE no es confiable ya que tiene una sensibilidad del 86% y una especificidad del 21%, no detecta el grado de esofagitis si este existiera, así mismo, este estudio incrementa la ansiedad en el paciente induciendo atragantamiento por aspiración aguda en la ausencia de aspiración pulmonar

crónica patológicamente significativa ⁽⁹⁾. La ultrasonografía fue propuesta recientemente para el estudio de ERGE, este examen no invasivo, parece ser una técnica para evaluar el vaciamiento gástrico mas que para el diagnóstico de ERGE. La centellografía demuestra eventos de reflujo no pudiendo distinguir entre ácido y no ácido, así mismo detecta aspiración pulmonar de material gástrico. Mas la aspiración pulmonar no es el único mecanismo por el cual el ERGE altera la función respiratoria y de sintomatología pulmonar, por lo que la ausencia de isótopos radioactivos aspirados en el estudio no descarta este último ^(3, 5). La esofagoscopia es la técnica de elección para detectar esofagitis, pero no es sensible para detectar reflujo. Las malformaciones anatómicas, son fácilmente visibles mediante esta técnica. El estándar de oro para el diagnóstico de ERGE es el monitoreo de 24 horas del pH esofágico, pero ello no permite probar la aspiración pulmonar secundaria al mismo. La pHmetría se reporta como diagnóstica de ERGE dependiendo de la cantidad de eventos de reflujo por hora, la duración de los mismos y el Ph de estos, según criterios ya establecidos. El monitoreo de su pHmetría puede ser normal y solamente un solo evento a la semana alcanza el pulmón y puede causar daño pulmonar.

La mucosa esofágica sufre lesión continua con los diferentes eventos de reflujo gastroesofágico, provocando esofagitis en diferentes grados ⁽⁴²⁾. Existen diferentes clasificaciones endoscópicas para clasificar por grados las lesiones esofágicas, entre ellas la clasificación de Savary – Miller, la clasificación de Los Ángeles y la clasificación de Kaiyo Takubo la cual se encuentra con mayor aceptación en la población pediátrica ^(41, 42). En la edad pediátrica por no referir sintomatología

digestiva como pirosis es difícil diagnosticarlos cuando no tienen manifestaciones evidentes como vomito y regurgitaciones. Describiéndose que en un 60-80% de los pacientes con ERGE sin manifestaciones evidentes cursan con esofagitis ⁽⁴²⁾. Motivo por el cual la toma de biopsias esofágicas es necesaria y de suma importancia, principalmente en las fases iniciales de lesión esofágica cuando el proceso inflamatorio es discreto y de manera macroscópica en la endoscopia no se distingues hallazgos patológicos ⁽⁴²⁾.

La broncoscopía para la detección del índice de macrófagos cargados de lípidos (IMCL), se ha propuesto para explicar la relación de ERGE y las manifestaciones respiratorias y poder diagnosticar aspiración pulmonar de manera objetiva ya que la presencia de MCL es indicativo de aspiración pulmonar ^(8, 10, 11, 13, 19, 21, 24, 32, 33, 34, 36). Hasta el momento no hay una prueba única que diagnostique ERGE como causa de enfermedad pulmonar. No hay acuerdo en el mejor método y el más apropiado en el diagnóstico de estos pacientes ⁽²⁾, así mismo no hay prueba que permita la identificación de niños que sufren de aspiración silenciosa secundaria a ERGE. Los síntomas respiratorios inespecíficos asociados a ERGE hacen el diagnóstico de aspiración silenciosa difícil, especialmente cuando el vómito recurrente está ausente ^(8, 11).

Algunos autores han propuesto a la broncoscopía como el método de elección para el diagnóstico de patología pulmonar ⁽¹⁴⁾, así mismo a la determinación del IMCL como un índice patognomónico de aspiración pulmonar secundaria a ERGE ^(1, 3, 5, 8, 10, 13, 16, 19, 21, 24, 32, 33, 34, 36). Las grasas con contenido ácido graso libre son

rápidamente hidrolizadas produciendo un proceso inflamatorio agudo dentro del pulmón. Los macrófagos alveolares migran al alveolo e ingieren rápidamente la grasa exógena y pueden formar células gigantes. Los macrófagos alveolares tienen una vida media corta y pueden dejar el lípido nuevamente en el interior del parénquima pulmonar, condicionando con ello edema, necrosis y hemorragia pulmonar, con formación de fibrosis y bronquiectasias ⁽¹⁾. Experimentos en animales han demostrado que una simple aspiración pulmonar puede causar una incorporación de lípidos en el macrófago alveolar rápidamente en las primeras 6 hrs disminuyendo a valores normales dentro de 2-4 días, mientras que una aspiración recurrente conduce a un incremento del contenido graso en los macrófagos alveolares que tarda aproximadamente 12 días ^(8, 11).

Se ha encontrado un incremento en el IMCL en algunas situaciones, como son pacientes con hiperalimentación lipídica endovenosa y embolismo graso, más sin embargo se ha determinado por algunos autores, IMCL como indicativo de aspiración pulmonar secundaria a ERGE. Colombo y Hallberg sugieren que un IMCL superior a 85 es indicativo de aspiración recurrente ⁽¹⁾, otro estudio reportó que los pacientes con ERGE y un IMCL más alto, tenían mayor síntomas respiratorios que aquellos pacientes con un IMCL mas bajo, considerando que un score mayor de 200 en el lavado broncoalveolar (LBA) confirma el diagnóstico de aspiración crónica ⁽⁵⁾. Hay quienes consideran que el diagnóstico de aspiración pulmonar es muy sugestivo cuando el IMCL es mayor de 85, siempre considerándose el contexto clínico del paciente ⁽⁷⁾. Se ha reportado por otros autores que la presencia de más del 50% de los macrófagos alveolares con un

citoplasma lleno de lípidos en un 75% del mismo es indicativo de aspiración pulmonar. La sensibilidad reportada fue del 61% y una especificidad del 97% con un valor predictivo positivo del 95% y un valor predictivo negativo del 72% ⁽³⁵⁾. Nussbaum et al consideran al IMCL con una sensibilidad de un 85% y especificidad del 80% ⁽¹⁵⁾. Un IMCL mayor de 100 tuvo una sensibilidad del 94% y especificidad del 89%, con un valor predictivo positivo del 98% y un valor predictivo negativo del 71% ⁽³¹⁾. A pesar de lo anterior existen argumentos controversiales como los de Corwing e Irwing que consideran que un IMCL es un marcador no específico de aspiración.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Tiene correlación directa el grado de esofagitis por biopsia con el índice de macrófagos cargados de lípidos en niños con enfermedad por reflujo gastroesofàgico?

JUSTIFICACION

Se ha observado en el transcurso de los años que en el estudio de pacientes con neumopatía crónica y con manifestaciones clínicas sugestivas de ERGE, las dificultades diagnósticas han prevalecido, siendo esto principalmente por la baja sensibilidad y especificidad de los estudios de gabinete. Siendo dichos estudios la gammagrafía para reflujo gastroesofágico y la serie esófago gastroduodenal, no así la determinación de pH esofágico que tiene una sensibilidad y especificidad alta para su diagnóstico. Se ha reportado en la literatura que la determinación de pHmetría de 24hrs es el estándar de oro para enfermedad por reflujo gastroesofágico, más sin embargo esta prueba como se mencionó, determina únicamente la presencia de reflujo más no la presencia de aspiración pulmonar, en donde la determinación del IMCL en el lavado broncoalveolar se considera la prueba diagnóstica de tal evento.

Se habla de que la determinación del IMCL en el lavado broncoalveolar es una prueba útil para el diagnóstico de aspiración pulmonar secundaria a ERGE. Mas dada la falta de un consenso y publicaciones acerca de lo mencionado así como la diversidad de opiniones al respecto nos vemos obligados a realizar un estudio donde se haga una determinación del IMCL en el lavado broncoalveolar de pacientes con presencia o sospecha clínica de ERGE, así como sospecha de neumopatía secundaria a aspiración pulmonar. Haciendo una correlación

patológica entre el IMCL en el lavado broncoalveolar y el grado de esofagitis obtenido por biopsias esofágicas por endoscopia digestiva.

Una de las dificultades en la practica clínica en los pacientes con ERGE es decidir indicar el tratamiento quirúrgico en los casos que no responden adecuadamente al tratamiento medico. Siendo la aspiración pulmonar y la esofagitis severa una justificación mas para indicar el tratamiento quirúrgico.

OBJETIVO GENERAL

El objetivo de este estudio es determinar si existe una correlación entre el índice de macrófagos cargados de lípidos en el lavado broncoalveolar y el grado de esofagitis por biopsia en pacientes con enfermedad por reflujo gastro esofágico.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Cuantificar la cantidad de lipófagos presentes en los lavados broncoalveolares.
2. Evaluar el grado de lesión esofágica a través de estudio endoscópico con toma de biopsias esofágicas.
3. Correlacionar el grado de esofagitis secundario a enfermedad por reflujo gastroesofágico por biopsia y el índice de macrófagos cargados de lípidos en el lavado broncoalveolar.

HIPOTESIS

El índice de macrófagos cargados de lípidos está relacionado directamente con el grado de esofagitis secundario a enfermedad por reflujo gastroesofágico.

MATERIAL Y METODOS

Se analizarán las biopsias esofágicas y lavados broncoalveolares en la población pediátrica con diagnóstico clínico y por serie esófago gastroduodenal de ERGE.

◆ Criterios de inclusión:

- Se consideran elegibles, todos los niños entre 3 meses y 16 años de edad, de ambos géneros que ingresan al Servicio de broncoscopia del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias con datos clínicos de Neumopatía por broncoaspiración secundaria a ERGE.

El Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER) es un centro de referencia de pacientes con patología pulmonar del país ofreciendo atención a la población pediátrica.

Los pacientes que son vistos en consulta externa de Neumología pediátrica y en quienes existen argumentos clínicos de sospecha de neumopatía crónica secundaria a aspiración pulmonar por ERGE, son generalmente ingresados para su estudio, completar su evaluación y tomar una conducta terapéutica.

◆ **Criterios de exclusión:**

-Hemodinamicamente inestable.

-Trastornos en la coagulación.

-No acepten firmar el consentimiento informado.

-Muestras inadecuadas.

-Que no cuenten con alguna de las muestras ó expediente clínico.

DESCRIPCIÓN DE LA MANIOBRA

A todos los pacientes elegibles y que contaron con los criterios de inclusión se les realizó serie esófago-gastro-duodenal (SEGD), fibrobroncoscopía (FBC) y panendoscopia con toma de biopsia del tercio distal del esófago. Todos los estudios se realizaron bajo las siguientes condiciones:

La **SEGD** se realizó cuando menos con 6 horas de ayuno independientemente de la edad, durante el tiempo de ayuno, se canalizó al enfermo y se administraron soluciones parenterales si son necesarias esto de acuerdo al grupo etario y masa ponderal. La SEG D se realizó a los pacientes administrando de 2 a 10 onzas de bario líquido hidrosoluble en posición supina y lateral izquierda. La aspiración pulmonar en la SEG D se registró si el material aparece en las vías aéreas por debajo de las cuerdas vocales.

La interpretación del estudio se calificó en seis estadios de acuerdo a criterios internacionales como sigue:

(Clasificación de Roy GK. McCauley por Serie Esofagogastroduodenal para ERGE)⁽⁴⁰⁾

1ero grado: Reflujo en esófago distal exclusivamente.

2do grado: Se extiende arriba de carina.

3ero grado: Reflujo en esófago cervical.

4to grado: Reflujo persistente y libre en esófago con acalasia.

5to grado: Reflujo de bario con aspiración en traquea y pulmones.

Grado D: Reflujo tardío, bario visto media hora después de terminado el estudio.

La **fibrobroncoscopía** (FBC) se realizó a todos los pacientes requiriendo para la misma ayuno de cuando menos 6 horas, requiriendo durante el mismo administración de soluciones parenterales calculadas de acuerdo a grupo etario y masa ponderal. La fibrobroncoscopía se realizó siempre por el mismo médico especializado en este procedimiento. Este procedimiento se realizó siempre bajo sedación profunda y anestesia general. La monitorización del enfermo se realizó de acuerdo a los lineamientos propuestos por la Federación Mexicana de Anestesiología y a los acuerdos de la Sociedad Mexicana de Pediatría. Se utilizó un FBC Olympus® BF 3C20 y BF P160 vía oral. Una vez sedado el enfermo, se introdujo el broncoscopio a través de la máscara facial ó mascarilla y se pasó por la boca hasta llegar a la laringe. Se realizó inspección de las cuerdas vocales, movilidad de cuerdas, traquea, carina y segmentos bronquiales en busca de lesiones endobronquiales, anomalías, de la mucosa y secreciones.

El lavado broncoalveolar se realizó enclavando la punta del fibrobroncoscopio a nivel del bronquio donde se observe la lesión radiológicamente y en caso de que la lesión fuera difusa, se optó realizarlo a nivel del bronquio de lóbulo medio ó lóbulo inferior. Una vez enclavada la punta del fibrobroncoscopio se realizó el LBA administrando 3 alícuotas de 1 ml/kg de peso de solución salina al 0.9%, después de unos segundos de administrada la solución se aspiró suavemente, para recuperar al menos un 60% de la solución instilada. La muestra se colectó en una

trampa de Lucken estéril y se transportó inmediatamente al servicio de patología para su procesamiento.

Una vez realizado el procedimiento se retiró el fibrobroncoscopio revisando la vía aérea previamente en busca de algún sangrado. Una vez que el enfermo se encontró completamente recuperado (saturación más del 90% al aire ambiente, respiración espontánea, movimientos espontáneos, Aldrete de 9, Ramsay 2) se pasó al servicio de recuperación de corta estancia por espacio de dos horas hasta que pasaron los efectos anestésicos. En recuperación permaneció monitorizado hasta su egreso.

Índice de macrófagos cargados de lípidos: Los lavados bronquiales fueron procesados en citospin, colocados en laminillas fijados en alcohol y secados al aire para ser teñidos con Sudan IV y Papanicolau. El contenido de lípidos se evaluó en el citoplasma de 100 macrófagos alveolares de manera individual, clasificándolo del 0 al 4. Las muestras se analizaron con el microscopio Zeiss Axioskop 40 con el programa de análisis de imagen Axio Visión por un mismo patólogo en todos los casos.

Donde:

- 0 = No hay lípidos en el citoplasma (Grado 0)
- 1 = Lípidos ocupan menos de $\frac{1}{4}$ del citoplasma (Grado 1)
- 2 = Lípidos ocupan entre $\frac{1}{4}$ y $\frac{1}{2}$ del citoplasma (Grado 2)
- 3 = Lípidos ocupan entre $\frac{1}{2}$ y $\frac{3}{4}$ del citoplasma (Grado 3)

4 = Lípidos ocupan la totalidad del citoplasma (Grado 4)

Ya habiendo clasificado en grados el total de macrófagos cargados de lípidos se sumaron dando un valor mínimo de 0 y un máximo de 400.

Figura 1. Macrófago sin lípido en su citoplasma; Grado 0 (Flecha).

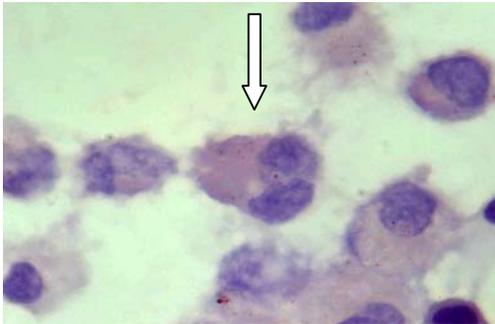


Figura 2. Macrófagos con lípido en su interior; Grado 1 (Flecha) y grado 3.

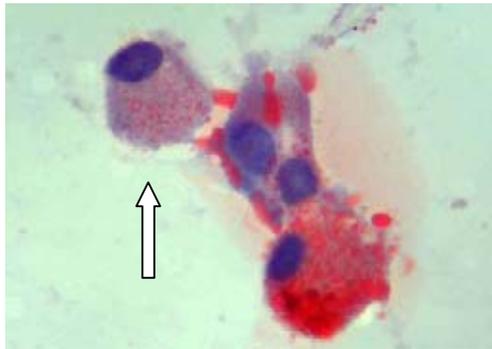


Figura 3. Macrófagos con lípido en su interior; Grado 1, 2 (Flecha), 3 y 4.

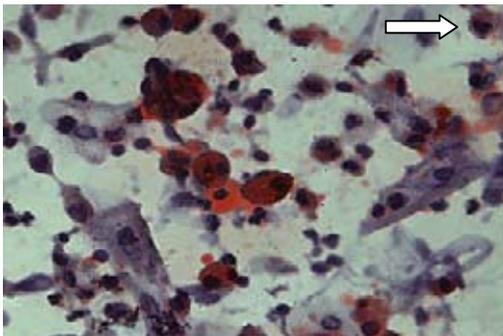


Figura 4. Macrófago con lípido en su interior; Grado 1 y 3 (Flecha).

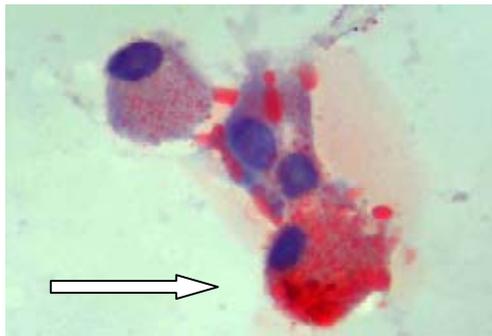
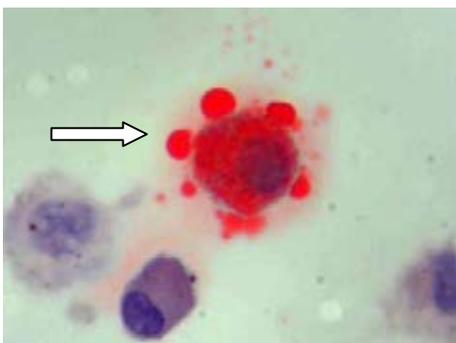


Figura 5. Macrófago con lípido en su interior; Grado 4 (Flecha).



Biopsia de esófago: se realizó a todos los pacientes con ayuno de cuando menos 6 hrs, requiriendo durante la misma administración de soluciones parenterales calculadas de acuerdo a grupo etario y masa ponderal. La toma de biopsia se realizó siempre por el mismo medico con un panendoscopio pediátrico Olympus® GIF-XP 240, tomando 3 biopsias de esófago con pinza para biopsia de 1mm. La toma de biopsias siempre se realizó bajo sedación profunda y anestesia. Una vez sedado el paciente, se introdujo el panendoscopio a través de una boquilla por la boca hasta llegar al esófago. Se realizó inspección del esófago y estomago en búsqueda de lesiones de la mucosa.

Una vez realizada la toma de biopsias esofágicas se esperara a su recuperación completa para pasarlo a la sala de recuperación de corta estancia por espacio de dos horas hasta que pasen los efectos anestésicos por completo, manteniéndose siempre monitorizado durante su recuperación.

El ERGE induce erosión y ulceración de la mucosa esofágica, con el tiempo, se identifican células plasmáticas, linfocitos y tejido fibroconectivo en el estroma y epitelio del esófago.

Los criterios para la esofagitis son los siguientes ⁽⁴¹⁾:

1. Infiltración por neutrófilos y eosinofilos.
2. Engrosamiento epitelial (hiperplasia de células basales).
3. Elongación de clavav epiteliales hacia el estroma.

Grados.

Grado Leve: Presencia de neutrófilos o eosinófilos en 1/3 de la mucosa con 15% de hiperplasia y elongación de las clavav epiteliales (Figura 6).

Grado Moderado: Presencia de neutrófilos o eosinófilos en 2/3 de la mucosa con 30% de hiperplasia y elongación de las clavav epiteliales (Figura 7).

Grado Severo: Presencia de neutrófilos o eosinófilos en todo el espesor de la mucosa con más del 60% de hiperplasia y elongación (Figura 8).

La panendoscopia digestiva para toma de biopsias esofágicas y el lavado broncoalveolar por broncoscopia para obtener el IMCL se realizaran en el mismo tiempo anestésico.

Figura 6. Esofagitis leve.

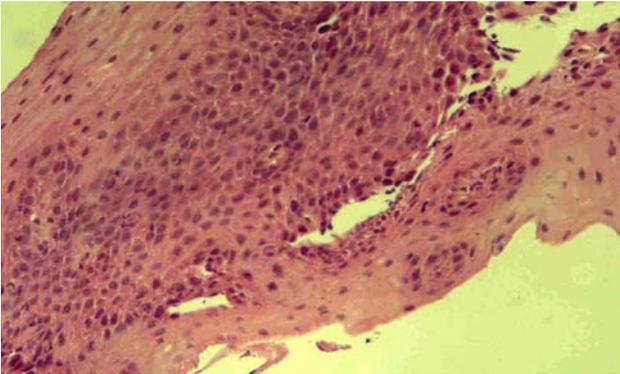


Figura 7. Esofagitis moderada.

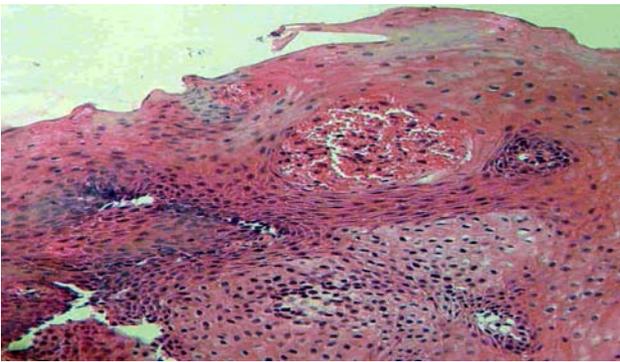
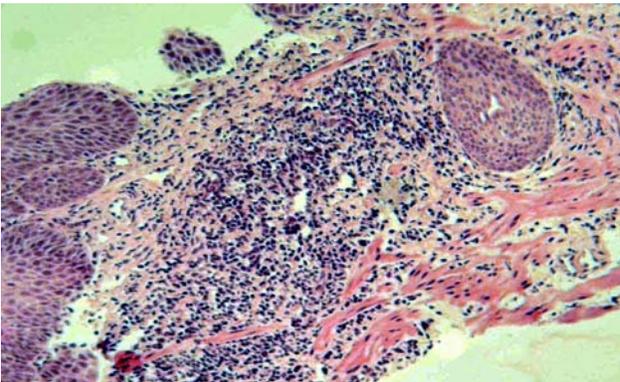


Figura 8. Esofagitis severa.



MATERIAL Y MÉTODO PARA BRONCOSCOPIA EN PACIENTES PEDIÁTRICOS

En la sala de broncoscopia con apoyo de anestesia general, se utilizó un Broncoscopio pediátrico Olympus® BF 3C40 de 3.6 mm, y Olympus® BF P160 de 4.9 mm dependiendo del grupo de edad. Canal de instrumentación de 1.2 mm y 1.8 mm respectivamente, jeringas de 20 ml, llave de tres vías, equipo ventury para oxigenación.

MATERIAL Y METODO PARA TOMA DE BIOPSIAS ESOFAGICAS EN PACIENTES PEDIATRICOS

En la sala de broncoscopia bajo anestesia general, se utilizó un panendoscopio pediátrico Olympus® GIF-XP 240, con una pinza para toma de biopsias de 1mm.

EQUILIBRIO DE BENEFICIOS Y RIESGOS FIBROBRONCOSCOPIA Y PANENDOSCOPIA

Las guías del ATS, dividen las contraindicaciones en aquellas que condicionan el aumento de riesgos y las que contraindican absolutamente la broncoscopia. Dentro de las últimas están; el no consentimiento del paciente, que se realice por una persona sin experiencia, inhabilidad de mantener oxigenado al paciente durante el procedimiento. Las contraindicaciones que condicionan aumento de riesgos son; falta de cooperación del paciente, hipoxemia que no revierta a 60 mmHg con oxígeno suplementario, hipercapnia aguda con un PaCO₂ mayor de 45 mmHg, obstrucción traqueal parcial, arritmias cardiacas y coagulopatias.

La mortalidad a consecuencia del procedimiento oscila entre 0.01% -0.5% y complicaciones mayores entre 0-08% -5%. En términos generales, la fibrobroncoscopia disminuye 20 mmHg la PaO₂, por lo que se recomienda monitorización con oximetría del pulso. Las arritmias cardiacas (extrasístoles ventriculares y supraventriculares) ocurren en el punto de máxima desaturación y no requieren en la mayor parte de los casos intervención farmacológica y solo se recomienda monitorización. En el INER se han realizado lavados broncoalveolares en pacientes con fibrosis pulmonar (Pa = 2 de 51 mmHg, FVC 59%) sin haber tenido complicaciones mayores en esta población.

Las complicaciones asociadas a los procedimientos en la población pediátrica son raras, ocurriendo en menos del 5% de los casos y casi siempre relacionadas a la anestesia general y a la aplicación tópica de xilocaina que provoca laringoespasma. Efectos menores incluyen tos durante y después del procedimiento, fiebre (5%), sangrado leve, broncoespasmo, disminución de la saturación de oxígeno (2-4%), arritmias cardiacas (<2%). Anormalidades radiográficas en el área de lavado son comunes y ocurren en el 90% de los casos después del procedimiento las cuales desaparecen en las siguientes 24 horas, sin consecuencias clínicas. En el INER se han realizado fibrobronoscopias en pacientes pediátricos reportando complicaciones mayores en 1.5%, mas específicamente en el lavado broncoalveolar sin ninguna complicación reportada (39).

En los últimos 3 años en el servicio de broncoscopia del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER) Ismael Cosío Villegas se practicaron 476 bronoscopias, donde se presentaron complicaciones en 103 pacientes (21.6%), de las cuales 96 (20.1%) fueron menores: desaturación aislada 85 (17.9%), laringoespasma transitorio 10 (2.1%) y epistaxis 1 (0.2%); y 7 mayores: neumotórax 1 (0.2%), desaturación menor al 90% que requirió suspensión del estudio 2 (0.4%), desaturación con broncoespasmo 1 (0.2%), hemoptisis masiva y muerte 1 (0.2%), este enfermo había sido operado en días previos de decorticación pulmonar por empiema pleural y broncotomía de bronquio principal izquierdo que se complicó con estenosis bronquial y fístula broncopleural (39). No

reportando ninguna complicación en los pacientes que se realizó únicamente lavado broncoalveolar ⁽³⁹⁾.

La panendoscopia con toma de biopsia en pacientes con Enfermedad por reflujo gastroesofágico tiene un riesgo mínimo teniendo como principal complicación sangrado en el sitio de toma de biopsia, siendo esta en 1 de cada 1000 procedimientos ⁽⁴³⁾.

El realizar ambos procedimientos broncoscopia y panendoscopia en pacientes con enfermedad por reflujo gastroesofágico da como riesgo los mismos que se mencionan de cada uno de ellos, siendo mínimo el aumento, esto basándonos en la experiencia de los principales hospitales pediátricos de México, como son el Hospital Infantil de México y el Instituto Nacional de Pediatría, donde se prefiere realizar ambos estudios en un mismo tiempo, ya que el realizarlos de manera separada incrementamos al doble el riesgo anestésico, encontrándose publicaciones donde reportan realización de triple procedimiento endoscópico (laringoscopia directa, broncoscopia y panendoscopia) en un mismo tiempo anestésico sin incremento en las complicaciones ⁽⁴³⁾.

METODOLOGIA

POBLACION DE ESTUDIO

Población de 3 meses a 16 años con diagnóstico clínico y por serie esófago gastroduodenal de ERGE y cuyos tutores acepten la realización de biopsia esofágica y lavado broncoalveolar. Los expedientes clínicos se reclutaron de enero del 2006 a agosto del 2007.

DISEÑO DE ESTUDIO

Es un estudio descriptivo, retrospectivo, comparativo y de corte transversal.

LUGAR DEL ESTUDIO

Servicio de Broncoscopia y Servicio de Neumología Pediátrica del INER.

ANALISIS DEL ESTUDIO

DEFINICION DE VARIABLES

Para demostrar la correlación entre índice de lipòfagos y esofagitis por biopsia se estudiaran las siguientes variables.

Historia clínica: género, edad, grupo de edad, hospital de origen, edad de inicio de síntomas.

De la serie gastroduodenal:

1ero: Reflujo en esófago distal exclusivamente.

2do: Se extiende arriba de carina.

3ero: Reflujo en esófago cervical.

4to: Reflujo persistente y libre en esófago con acalasia.

5to: Reflujo de bario con aspiración en traquea y pulmones.

Grado D: Reflujo tardío, bario visto media hora después de terminado el estudio.

De la biopsia de esófago:

Grado Leve: Presencia de neutrófilos o eosinofilos en 1/3 de la mucosa con 15% de hiperplasia y elongación de las clavav epiteliales.

Grado Moderado: Presencia de neutrófilos o eosinofilos en 2/3 de la mucosa con 30% de hiperplasia y elongación de las clavav epiteliales.

Grado Severo: Presencia de neutrófilos o eosinófilos en todo el espesor de la mucosa con más del 60% de hiperplasia y elongación.

Del índice de lipófagos:

- 0 : No hay lípidos en el citoplasma (Grado 0).
- 1 : Lípidos ocupan menos de $\frac{1}{4}$ del citoplasma (Grado 1).
- 2 : Lípidos ocupan entre $\frac{1}{4}$ y $\frac{1}{2}$ del citoplasma (Grado 2).
- 3 : Lípidos ocupan entre $\frac{1}{2}$ y $\frac{3}{4}$ del citoplasma (Grado 3).
- 4 : Lípidos ocupan la totalidad del citoplasma (Grado 4).

Ya habiendo clasificado 100 macrófagos en grados, el total de macrófagos cargados de lípidos se sumaron todos los grados dando un valor mínimo de 0 y un máximo de 400.

ANALISIS ESTADISTICO

Calculo de proporciones para variables categóricas. Para variables continuas se resumirán en medidas de tendencia central (media) y de dispersión (desviación estándar). Para realizar la correlación entre el Índice de macrófagos cargados de lípidos y el grado de esofagitis se utilizo la prueba de Spearman con una significancia estadística $P < 0.05$.

RESULTADOS

Se incluyeron en el estudio 25 pacientes, de los cuales 11 fueron del sexo femenino y 14 del sexo masculino (Tabla y grafica 1). La edad promedio fue de 30.44 meses (2.5 años), D.E. \pm 32.34 (Tabla y grafica 2). Al clasificarlo por grupo de edad encontramos 13 lactantes, 10 preescolares, 1 escolar y 1 adolescente (Tabla y grafica 3).

Se incluyeron pacientes de diferentes hospitales, incluyendo 11 del INER y 14 de otros hospitales pediátricos. Los cuales tenían por clínica y por serie gastro-esofágico-duodenal el diagnostico de ERGE. Por SEG D incluimos 8 con grado 1, 7 con grado 2, 6 con grado 3 y 4 con grado 4, sin tener pacientes con grado 5 o grado D.

La biopsia esofágica se reporto negativa en 2 pacientes, esofagitis leve en 10 pacientes, esofagitis moderada en 11 pacientes y esofagitis severa en 2 pacientes.

El IMCL reporto un promedio de 88.24 (D.E. \pm 38.36), con un valor mínimo de 2 y un valor máximo de 176.

Al practicar el análisis estadístico para la correlación entre el IMCL y el grado de esofagitis no se encontró ninguna correlación, la tabla 7 resume las principales características de los pacientes.

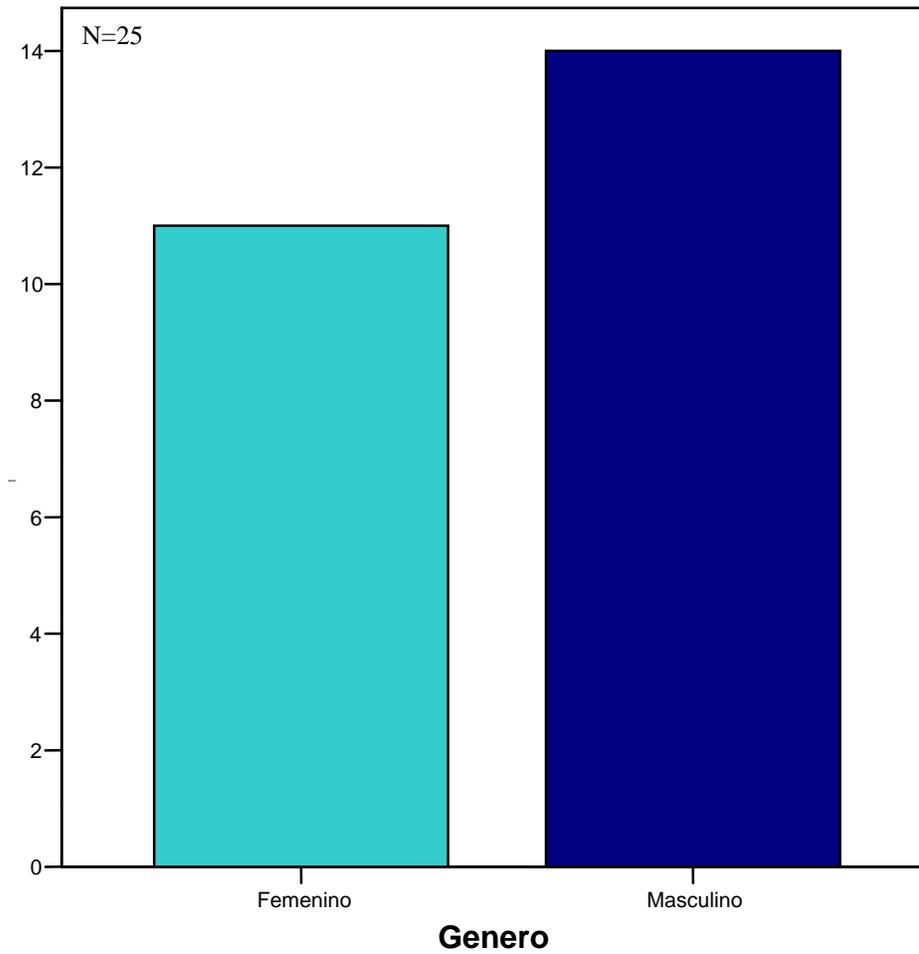
GRAFICAS

-Tabla 1.

Genero

<i>Sexo</i>	<i>Frecuencia</i>	<i>Por ciento</i>
Femenino	11	44%
Masculino	14	56%
Total	25	100%

-Grafica 1.

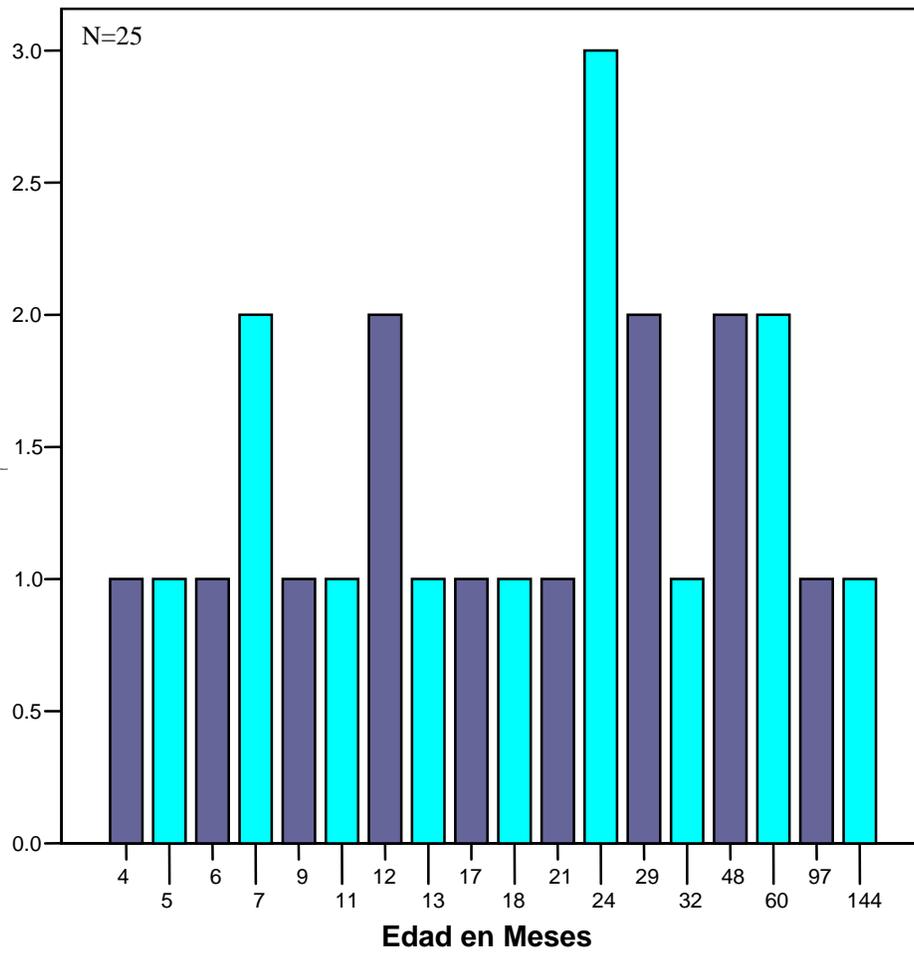


-Tabla 2.

Edad en Meses

<i>Edad en meses</i>	<i>Frecuencia</i>	<i>Por ciento</i>
4	1	4%
5	1	4%
6	1	4%
7	2	8%
9	1	4%
11	1	4%
12	2	8%
13	1	4%
17	1	4%
18	1	4%
21	1	4%
24	3	12%
29	2	8%
32	1	4%
48	2	8%
60	2	8%
97	1	4%
144	1	4%
Total	25	100%

-Grafica 2.

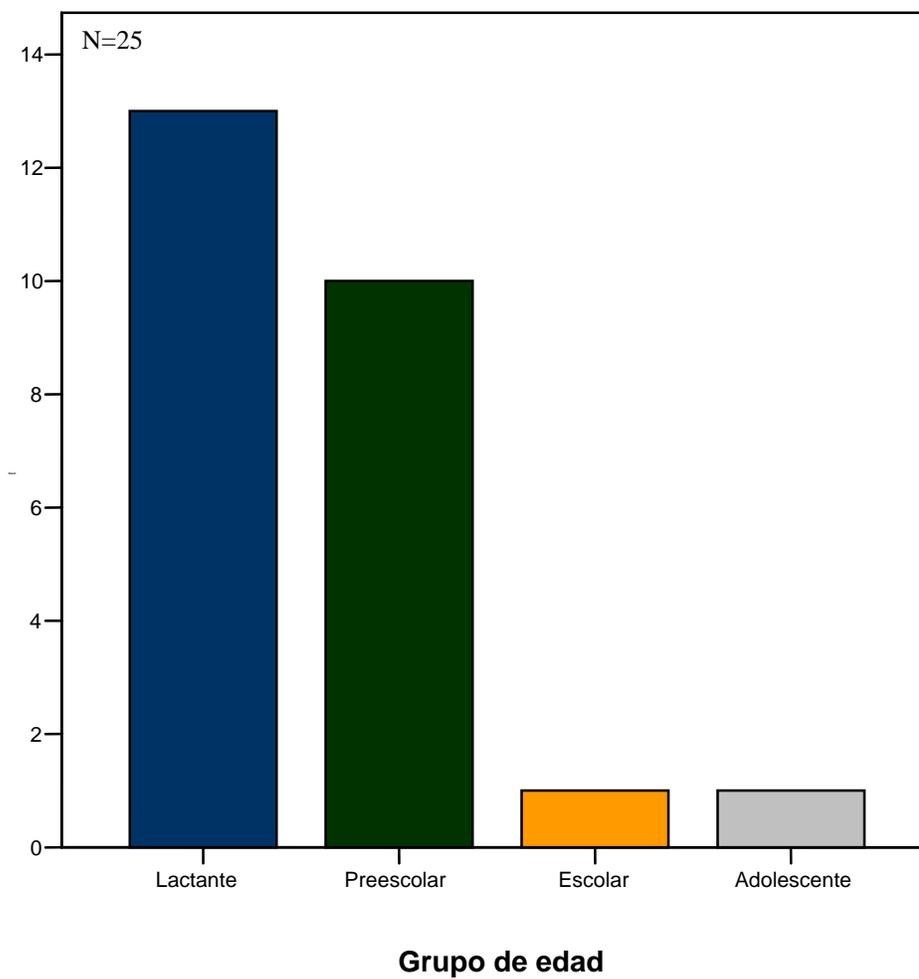


-Tabla 3.

Grupo de edad

<i>Grupo de edad</i>	<i>Frecuencia</i>	<i>Por ciento</i>
Lactante (1 mes - 24 meses)	13	52%
Preescolar (2 años - 5 años)	10	40%
Escolar (6 años - 11 años)	1	4%
Adolescente (12 años - 18 años)	1	4%
Total	25	100%

-Grafica 3.

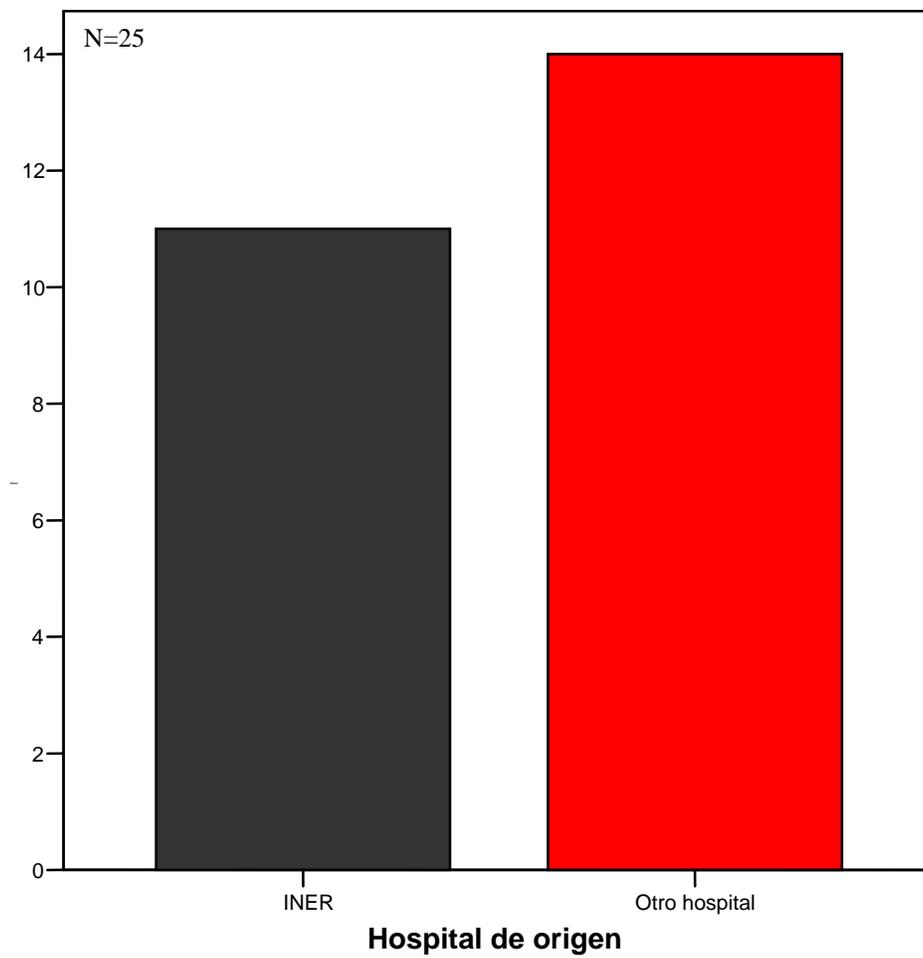


-Tabla 4.

Hospital de origen

<i>Hospital de origen</i>	<i>Frecuencia</i>	<i>Por ciento</i>
INER	11	44%
Otro hospital	14	56%
Total	25	100%

-Grafica 4.

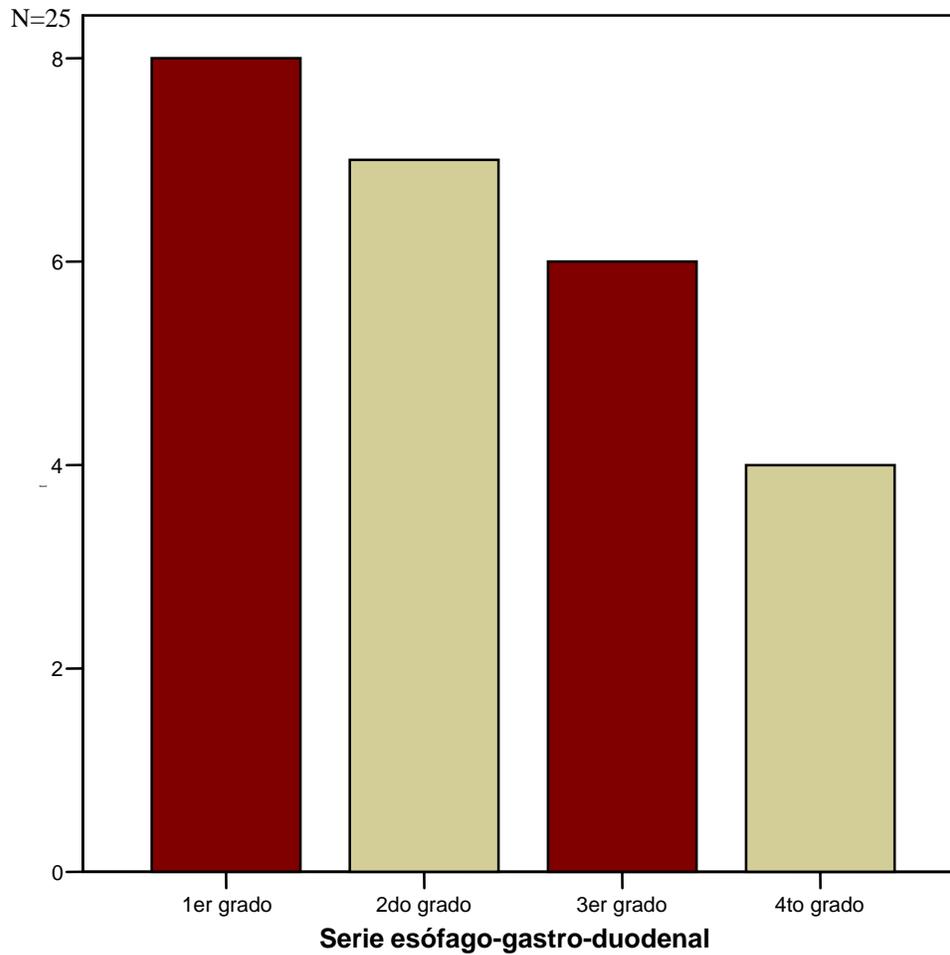


-Tabla 5.

Serie esófago-gastro-duodenal

<i>SEGD</i>	<i>Frecuencia</i>	<i>Por ciento</i>
1er grado	8	32%
2do grado	7	28%
3er grado	6	24%
4to grado	4	16%
Total	25	100%

-Grafica 5.

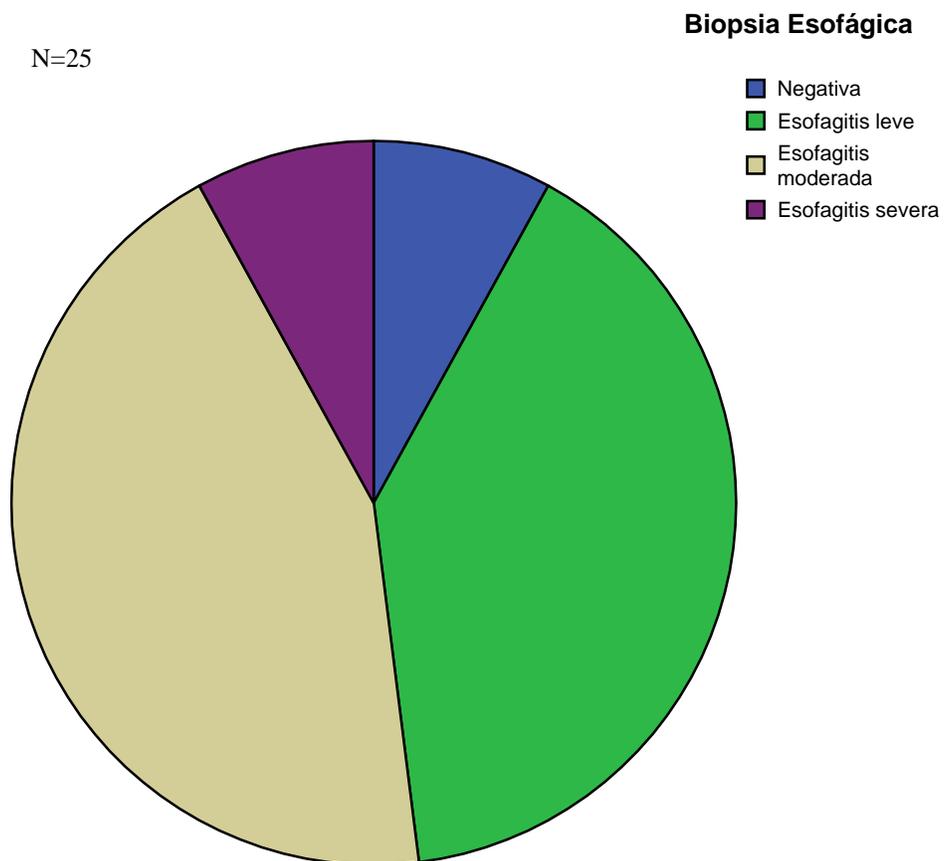


-Tabla 6.

Biopsia Esofágica

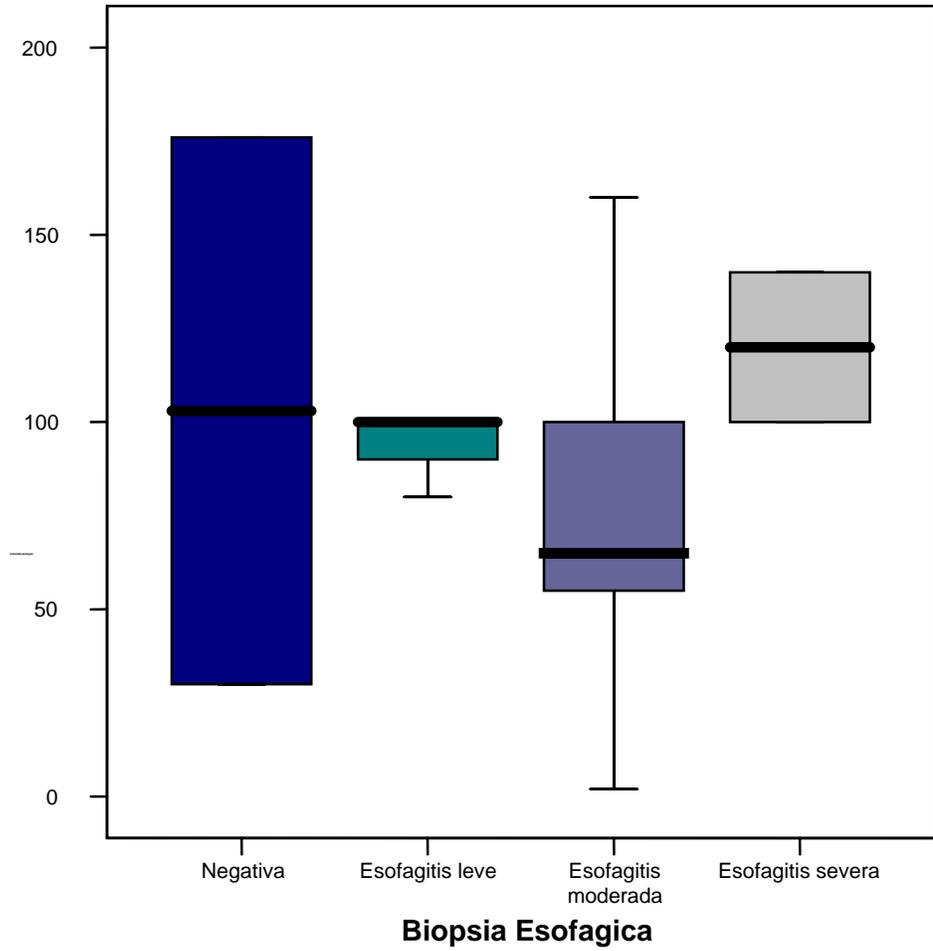
Biopsia esofágica	Frecuencia	Porciento
Negativa	2	8%
Esofagitis leve	10	40%
Esofagitis moderada	11	44%
Esofagitis severa	2	8%
Total	25	100%

-Grafica 6.



-Grafica 7.

IMCL



-Tabla 7.

Paciente	Edad	Genero	Esofagitis	IMCL
1	7 meses	Masculino	Moderado	63
2	5 meses	Masculino	Leve	100
3	7 meses	Masculino	Moderado	65
4	29 meses	Femenino	Severo	100
5	24 meses	Masculino	Leve	100
6	4 meses	Masculino	Leve	100
7	97 meses	Femenino	Leve	90
8	12 meses	Femenino	Leve	50
9	24 meses	Masculino	Moderado	160
10	17 meses	Masculino	Leve	100
11	60 meses	Masculino	Moderado	100
12	32 meses	Masculino	Negativo	30
13	6 meses	Femenino	Moderado	100
14	29 meses	Femenino	Leve	100
15	12 meses	Femenino	Moderado	50
16	60 meses	Femenino	Leve	100
17	48 meses	Femenino	Leve	80
18	144 meses	Femenino	Moderado	100
19	11 meses	Femenino	Moderado	2
20	18 meses	Masculino	Moderado	40
21	9 meses	Masculino	Moderado	100
22	24 meses	Masculino	Severo	140
23	24 meses	Masculino	Negativo	176
24	21 meses	Masculino	Leve	100
25	13 meses	Femenino	Moderado	60

DISCUSION

Las debilidades que tiene nuestro estudio es que es una población pequeña y que el diagnostico de ERGE no fue posible realizarse mediante Phmetria. El diagnostico de ERGE se realizo en los datos clínicos y por serie esófago-gastro-duodenal, donde predominaron los grados leves (1 y 2).

El diagnostico de aspiración pulmonar se realizó en base al IMCL, siendo sugestivo de este un índice mayor a 85. No contamos con otros estudios confirmatorios de aspiración pulmonar como la centellografía pulmonar.

Las biopsias de esófago predominaron la esofagitis leve y moderada en un 40% y un 44% respectivamente, y habiendo tenido 2 pacientes con esofagitis negativa y 2 con esofagitis severa. Con respecto al índice de macrófagos cargados de lípidos el índice mas bajo fue de 2 puntos, y el más alto de 176, predominando un índice mayor al 85 en la mayoría de los casos, el cual es sugestivo de aspiración pulmonar.

La hipótesis del trabajo era encontrar una correlación directa entre el IMCL y el grado de esofagitis, pero al realizar el análisis estadístico no encontramos ninguna correlación. Ya que encontramos pacientes con esofagitis severa sin un índice de macrófagos cargados de lípidos sugestivo de aspiración pulmonar. Esto podemos explicarlo porque existen pacientes que cursan con ERGE severo que no

presentan aspiración pulmonar. Por el contrario encontramos pacientes con un IMCL sugestivo de aspiración pulmonar, sin esofagitis. Esto se debe a que el paciente puede cursar con otro mecanismo de aspiración pulmonar como una alteración en la mecánica de la deglución. Estos mismos hallazgos han sido sugeridos por otros autores ⁽⁴³⁾.

Sin embargo un IMCL elevado sugestivo de aspiración pulmonar puede apoyarse en un momento dado el tratamiento quirúrgico, siempre y cuando se hayan descartado otras causas de aspiración pulmonar.

Así mismo valorar el grado de esofagitis en un paciente que no responde al tratamiento médico para ERGE puede ser candidato a tratamiento quirúrgico, previniendo otras complicaciones como sangrado esofágico o estenosis esofágica.

ANEXO 1.

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo _____ autorizo a que se le practiquen a _____ los estudios comprendidos en el protocolo denominado **“CORRELACION ENTRE EL INDICE DE MACROFAGOS CARGADOS DE LIPIDOS EN EL LAVADO BRONCOALVEOLAR Y EL GRADO DE ESOFAGITIS POR BIOPSIA EN NIÑOS CON ENFERMEDAD POR REFLUJO GASTROESOFAGICO”**.

Consistente en toma de lavado broncoalveolar en el cual se realizara con broncoscopio realizando inspección de las cuerdas vocales, traquea, carina y segmentos bronquiales en busca de lesiones endobronquiales, anormalidades, de la mucosa y secreciones. Posteriormente se realizara el Lavado Broncoalveolar (LBA) donde se observe la lesión radiológicamente y en caso de que la lesión fuera difusa, se optará realizarlo a nivel del bronquio de lóbulo medio ó llingula.

La biopsia de esófago se realizara con el panendoscopio pediátrico requiriendo sedación y analgesia. Una vez sedado el paciente, se introducirá el panendoscopio a través de una boquilla por la boca hasta llegar al esófago, donde se realizara inspección del esófago y estomago en búsqueda de lesiones de la mucosa y se tomaran 3 biopsias del sitio de lesión y si no hubiera lesión visible, del tercio distal de esófago.

Las complicaciones asociadas a los procedimientos son raras, ocurriendo en menos del 0.8% al 5% de los casos y casi siempre relacionadas a la anestesia general y a la aplicación tópica de xilocaina que puede provocar laringoespasma. Efectos menores incluyen tos durante y después del procedimiento, fiebre (5%), sangrado leve, broncoespasmo, disminución de la saturación de oxígeno (2-4%), arritmias cardiacas (menos del 2%). Anormalidades radiográficas en el área de lavado son comunes y ocurren en el 90% de los casos después del procedimiento las cuales desaparecen en las siguientes 24 horas, sin consecuencias clínicas. En el INER se han realizado fibrobroncoscopias en pacientes pediátricos reportando complicaciones mayores en 1.5%, mas específicamente en el lavado broncoalveolar sin ninguna complicación reportada. Se cuenta en el Servicio de Broncoscopia con la capacidad para resolver estas complicaciones en caso de presentarse.

Recibí información acerca del protocolo mencionado, así como las complicaciones posibles del mismo.

En caso de no aceptar participar en el protocolo de estudio, no se tendrá ninguna represalia, ni se verá afectada la relación medico paciente que existe hasta el momento y no cambiará la atención que se dé al paciente.

Firma del responsable _____

Fecha _____

Testigo _____

Testigo _____

Dr. Rigoberto Carrasco Félix.
Residente de Neumología Pediátrica.
Cel. 5518758339

Dr. Salomón Sergio Flores Hernández.
Medico Adscrito al Servicio de
Broncoscopia. Cel. 5554190781

ANEXO 2.

HOJA DE RECOLECCION DE DATOS

Nombre de paciente _____

Expediente_____

Sexo_____

Edad_____

Hospital_____

Presentación clínica

Respiratorios

Digestivos

Generales

Tos_____

Vomito_____

Detención de
Peso_____

Sibilancia _____

Regurgitación_____

Detención de
Talla_____

Estridor _____

Evolución

Edad de inicio_____

Tiempo de evolución_____

Comentarios_____

_____.

Procedimientos diagnósticos

Serie esófago-gastro-duodenal

Grado_____

Índice de lipòfagos

IMCL_____

Biopsia esofágica

Grado_____

BIBLIOGRAFIA

1. Kajetanowicz A, Stinson D, Laybolt KS, Resch L. Lipid laden macrophages in the traqueal aspirate of ventilated neonates receiving intralipid. A pilot study. *Pediatric Pulmonology* 1999 Aug; 28(2):101-8.
2. Perez Fernandez Lorenzo, Cuevas Schachtz Francisco. Criterios diagnósticos y tratamiento de las neumopatías por reflujo gastroesofágico. *Criterios Pediátricos* Págs 19 -20, Marzo 1986.
3. Benhamou PH, Vannerom P., N Kalach, Dupont C. Diagnostic procedures of GER in childhood lung disease. *Pediatric Pulmonology*, supplement 11; 116-117, 1995.
4. Claire Langston, Amy Pappin. Lipid-laden alveolar macrophages as an indicator of aspiration pneumonia. *Arch Pathol Lab Med.* 1996; 120:326-27.
5. Ahrens P. Noll C, Kitz R, Willigens P, Zielen S, Hofmann D. Lipid Laden alveolar macrophages (LLMA) a useful marker of silent aspiration in children. *Pediatric Pulmonology* 1999 Aug; 28(2): 83-8.
6. Kim A. Collins, Kim R. Geisinger, P.H. Wagner, Katherine S. Blackburn, Lisa K. Washburn, Steven M. Block. The cytologic evaluation of Lipid-laden alveolar macrophages as indicator aspiration pneumonia in young children. *Arch Pathol Lab Med.* 1995; 119:229-3.
7. Bauer ML, Lyrene RK. Chronic aspiration in children evaluation of the lipid laden, macrophage index. *Pediatric Pulmonology* 1999 Aug; 28(2): 94-100.
8. Radford PJ, Stillwell PC, Blue B, Hertel G. Aspiration complicating bronchopulmonary dysplasia. *Chest* 1995 Jan; 107(1): 185-8.
9. O'sullivan, Curzon, Roberts GJ, Milla PJ, Stringer. Gastroesophageal reflux in children and its relationship to erosion of primary and permanent teeth. *Eur J Oral Sci* 1998 jun; 106(3): 765-9.
10. Waki EY, Madgy DN, Belenky WM, Gover VC. The incidence of gastroesophageal reflux in recurrente croup. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 1995 Jul; 32(3):223-32.
11. Knauer-Fischer Straiten F. Lipid laden macrophages in bronquioalveolar lavage fluid as a marker for pulmonary aspiration. *Pediatric Pulmonology* 1999 Jun; 27(6): 419-22.

12. Ahrens P, Weimer B, Hofmann D. Severe interstitial lung disease from pathologic gastroesophageal reflux in children. *Pneumologie* 1999 Jul; 53(7):369-72.
13. Annobil SH, Morad NA, Kameswaran M, el Tahir MI, Adzaku F. Bronchiectasis due to lipid aspiration in childhood; clinical and pathological correlates. *Ann Trop Paed* 1996 Mar; 16(1):19-25.
14. Stroh BC, Faust RA, Rimell FL. Results of esophageal biopsies performed during triple endoscopy en the pediatric patient. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1998 May; 124(5): 545-9.
15. Sacco O, Fregonese B, Silvestri M, Sabatini F, Mattioli G, Ropssi GA. Difficult to test respiratory symptoms. *Pediatric Pulmonology* 2000 Oct; 30(4): 313-9.
16. Catto Smith AG. Gastroesophageal reflux in children. *Aus Fam Physician* 1998 Jun; 27(6):465-9; 472-3.
17. Dunn JC, Lai EC, Webber MM, Ament ME, Fonkasrud EW. Long Term quantitative results following funduplication and antroplasty for gastroesophageal reflux and delayed gastric emptying in children. *Am J Surg.* 1998 jan;175(1):27-29.
18. William Corwin, Richard S. Irwin. The lipid-laden alveolar macrophage as a marker of aspiration in parenchymal lung disease. *Am Rev Respir Dis* 1985; 132:576-81.
19. Midulla F, Strappini PM, Ascoli V, Villa MP, Indinnimeo L, Falasca C, Martella S, Ronchetti R. Bronchoalveolar lavage cell analysis in a child with chronic lipid pneumonia. *Eur Respir J* 1998 Jan; 11(1): 239-42.
20. Carney IK, Gibson PG, Murree-Allen K, Saltos N, Olson LG, Hensley MJ. A systematic evaluation of mechanisms in chronic cough. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997 Jul; 156(1): 211.
21. Furuya ME, Maretinez I, Zuñiga Vazquez G, Hernández Contreras I. Lipoid pneumonia, in children; clinical and imagenological manifestations. *Arch Med Res* 2000 Jan – Feb; 31(1): 42-7.
22. Osvaldo Danus, Carlos Casar, Augusto Larrain, Charles E. Pope II. Esophageal reflux-an unrecognized cause of recurrent obstructive bronchitis in children. *J Pediatr.* 1976; 89(2): 220-24.
23. Nicolai T. *Pediatric Pulmonology*, 31; 151-154, 2001.

24. Dupont C, Benhamou PH. Gastroesophageal reflux in children. *Rev Prat* 1998 Feb 15; 48(4):395-402.
25. Tolaymat N, Champman DM. Gastroesophageal reflux disease in children older than two years age. *Med J.* 1998 Jan-Feb; 94(1):22-5.
26. William RA. Lipid laden alveolar macrophages may indicate either aspiration pneumonia or sickle cell acute chest syndrome associate with pulmonary fat embolism. *Arch Pathol Lab Med.* 1995 Sep; 119(9): 772.
27. Rhotenberg SS, Bratton D, Larsen G, Deterding R, Milgrom H, Brugman S, Boguniewicz M, Copenhaver S, White C, Wagener J, Fan L, Chang J, Stathos T. Laparoscopic funduplication to enhance pulmonary function in children with severe reactive airway disease and gastroesophageal reflux disease. *Surg Endosc* 1997 Nov; 11(11):1088-1090.
28. Snajdauf J, Vyhnanek M, Vondrakova L, Jeneral P, Horak J. Late results afeter surgical treatment of gastroesophageal reflux in childhood. *Rozhl Chir.* 1997 Aug; 76(8):370-3.
29. John L. Colombo, MD. Pulmonary aspiration and lipid-laden macrophages: In search of gold (Standars). *Pediatric Pulmonology* 1999; 28:79-82.
30. Isch JA, Rescorda FJ, Scherer LR, West Kw, Grosfeld JL. The development of gastroesophageal reflux after percutaneous endoscopic gastrostomy. *J Pediatr Surg.* 1997 Feb; 32(2):321-2.
31. Adams R, Ruffin R, Capmbell D, The Value of the Lipid laden macrophage index in the assessment of aspiration pneumonia. *Aust N Z J Med* 1997 Oct; 27(5):550-3.
32. Schellhase DE, Fawcett DD, Schutze GE, Lensing SY, Tryka AF. Clinical utility of flexible bronchoscopy and bronquioalveolar lavage in young children with recurrent wheezing. *J Pediatr.* 1998 Feb; 132(2): 312-18.
33. Picard E, Schwartz S, Goldberg S, Glick T, Villa Y, Kerem E. A prospective study of fever and bacteremia after flexible fibreoptic bronchoscopy in children. *Chest* 2000 Feb; 117(2): 573-7.
34. Vejar L, Le Cverf P. Pulmonary aspiration in children. Quantification of lipid laden alveolar macrophages. *Rev Med Chil.* 1997 Feb; 125(2):191-4.
35. Collins KA, Gunslinger KR, Wagner PH, Blackburn KS, Washburn LK, Block SM. The cytologic evaluation of lipid laden alveolar macrophages as an indicator of aspiration pneumonia in young children. *Arch Pathol Lab Med.* 1995 Mar; 119(3): 229-31.

36. Bandla HP, Davis SH, Hopkins NE. Lipoid pneumonia: a silent complication of mineral oil aspiration. *Pediatrics*. 1999 Feb; 103(2):19.
37. Martin L. Bauer, Raymond K. Lyrene. Chronic aspiration in children: Evaluation of the lipid-laden macrophage index. *Pediatric Pulmonology* 1999; 28:94-100.
38. Peter Ahrens, Christina Noll, Richard Kitz, Petra Willigens, Stefan Zielen, Dietrich Hofmann. Lipid-laden alveolar macrophages (LLAM): A useful marker of silent aspiration in children. *Pediatric Pulmonology*. 1999; 28:83-88.
39. Jamaica Lourdes, Nuñez Carlos, Guerrero Eugenia, Flores Sergio. Broncoscopia pediàtrica. Tres años de experiencia en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas. *Rev Inst Nal Enf Resp Mex*. 20(2) Abril – Junio 2007: 101-105.
40. Roy G. K. McCauley, Donald B. Darling, Jonh C. Leonidas, Alan M. Schwartz. Gastroesophageal Reflux in Infants and Children: A Useful Classification and Reliable Physiologic Technique for Its Demonstration. *Am J Roentgenol* 130: 47-50, January 1978.
41. Kaiyo Takubo. Pathology of the Esophagus, "Esophagitis and Esophageal Ulcer", Pag. 77-87. Ed. Educa Inc. Tokyo Japan. 2000.
42. Mario Vieira, Julio Pisani, Rogerio Mulinari. Diagnosis of reflux esophagitis in infants: histology of the distal esopahgus must complement upper gastrointestinal endoscopy. *J Pediatr* 2004; 80(3): 197-202.
43. Brandon Stoch, Russell Faust, Franklin Rimell. Results of Esophageal Biopsies Performed During Triple Endoscopy in the Pediatric Patient. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 1998; 124:545-549.